

A baktériumok quorum érzékelésének ágens alapú modellezése



Bihary Dóra

Doktori (Ph.D.) értekezés

Témavezető:

Dr. Pongor Sándor

PÁZMÁNY PÉTER KATOLIKUS EGYETEM
INFORMÁCIÓS TECHNOLÓGIAI ÉS BIONIKAI KAR

Budapest, 2014

Köszönetnyilvánítás

Mindenekelőtt szeretnék köszönetet mondani témavezetőmnek, Dr. Pongor Sándornak, akitől rengeteg segítséget, támogatást kaptam az elmúlt évek során. Köszönettel tartozom továbbá kollégáimnak és az általam vezetett szakdolgozóknak, akiknek az együttműködése nélkül nem tudtam volna elvégezni ezt a munkát. Munkám során szinte végig közösen dolgoztam Kerényi Ádámmal (PhD hallgató, MTA SzBK, Szeged), az ő eredményei, tanácsai, valamint a vele folytatott beszélgetések rengeteg segítséget nyújtottak nekem. Köszönettel tartozom Juhász Jánosnak, Rétlaki Gábornak és Tóth Mariettának, akik szakdolgozatukkal segítették munkámat.

Köszönöm továbbá a PPKE-ITK Doktori Iskolájának, annak volt és jelenlegi vezetőjének, Dr. Roska Tamásnak és Dr. Szolgay Péternek a lehetőséget arra, hogy PhD munkámat a karon folytathattam.

Köszönöm doktorandusz társaimnak az elmúlt évek során nem csak a szakmai beszélgetéseket, segítségnyújtásokat, hanem a barátságukat, mely rengeteget segített abban, hogy még a legátlagosabb hétköznapiakat is mindig jó hangulatban tudjuk eltölteni: Borbély Bencének, Gelencsér Zsoltnak, Józsa Csabának, Laki Andrásnak, Ligeti Balásznak, Reguly Istvánnak, Rudan Jánosnak, Sárkány Norbertnek, illetve Tuza Zoltánnak.

Végül, de nem utolsó sorban köszönöm családomnak, barátaimnak, hogy az elmúlt négy év során végig támogattak, hittek bennem, illetve külön köszönettel tartozom Ádámnak, aki amellett, hogy mindvégig bátorított és mellettem állt, szakmailag is rengeteg kérdésben tudott nekem segítséget nyújtani.

Tartalomjegyzék

Rövidítések jegyzéke	4
Glosszár	5
1. Bevezetés	7
1.1 Irodalmi áttekintő	7
1.1.1 Biológiai háttér ismertetése	7
1.1.2 Baktériumok modellezése, a modell típusok osztályozása	17
1.2 Lokalitas és globalitás elve	29
1.3 A disszertáció felépítése	30
2. Több fajból álló baktérium közösségek ágens alapú modellezése	31
2.1 A modell működése	31
2.1.1 A modell ágensei	32
2.1.2 Reakció-diffúziós egyenletek a modellben	35
3. Módszertani fejlesztések	37
3.1 Több kémiai anyag használata a modellben	37
3.2 Numerikus és vizualizációs eszközök nagy mennyiségű adat kezelésére	38
3.2.1 A fitness és a relatív fitness fogalmának bevezetése	38
3.2.2 A térbeli szegregáció bevezetése	39
3.2.3 Eredmények ábrázolása hőterképek felhasználásával	41
3.3 A baktériumok versengésének leírása fizikai potenciálfüggvények segítségével	42
3.3.1 Lennard-Jones potenciál	42
3.3.2 Weeks-Chandler-Andersen potenciál	43
4. Két faj közötti versengés nyílt és zárt térben	44
4.1 A hipotézis felállítása	45
4.2 Nyílt és zárt tér definiálása	46
4.3 Két faj közötti versengés, a felállított hipotézis igazolása	49
4.4 További kísérletek – invazivitás vizsgálata	50
4.4.1 Invazivitás a zárt modellben	51
4.4.2 Invazivitás a nyílt modellben	53

5. A kommunikáció és kooperáció szimmetrikus és aszimmetrikus típusai	60
5.1 Idegen jelek érzékelése: Lehallgatás	62
5.1.1 Populációs mintázatok, és azok megkülönböztetése numerikus esz- közökkel	62
5.1.2 Aszimmetrikus áthallás quorum sensing nélkül	65
5.1.3 Aszimmetrikus lehallgatás a quorum sensing rendszerben	66
5.2 Összehasonlítás kölcsönös jelérzékeléssel	68
6. A térért való versengés modellezése	69
6.1 A korreláció bevezetése	70
6.2 LJ és WCA potenciálok paraméterezése baktériumok mozgásának leírására	71
6.3 A mozgás korrelációja kevert és szegregált esetben	74
6.4 Konklúziók	75
7. Stabilis mutációk megjelenése a kolóniákban	76
7.1 Parazitizmus bevezetése a modellrendszerben	77
8. Összefoglalás	81
8.1 Új tudományos eredmények	81
8.2 Az eredmények alkalmazási területei	86
A. A program futása során használt paraméterek és azok tipikus értékei	87

Rövidítések jegyzéke

QS	quorum sensing
AHL	acil-homoszerin-lakton
DNS	deoxiribonukleinsav
RNS	ribonukleinsav
miRNS	mikro-RNS
HK	hisztidin kináz
WT	"wild type", vad típus
SN	a <i>luxI</i> gén kiütésével képzett ún. "signal negative" mutáns
SN ^L	<i>lasI</i> gén kiütésével képzett SN mutáns
SN ^{LR}	<i>lasI</i> és <i>rhlI</i> gének kiütésével képzett SN mutáns
SB	a <i>luxR</i> gén kiütésével képzett ún. "signal blind" mutáns
SB ^L	<i>lasR</i> gén kiütésével képzett SB mutáns
SB ^{LR}	<i>lasR</i> és <i>rhlR</i> gének kiütésével képzett SB mutáns
DBM	dense branching morphology, sűrűn elágazódó elrendeződés
DLA	diffusion-limited aggregation, diffúzió-limitált aggregáció
LJ	Lennard-Jones potenciál
WCA	Weeks-Chandler-Andersen potenciál

Glosszárium

biofilm képzés

Mikroorganizmusok közössége, melyek egy bizonyos felületen, egymáshoz tapadva helyezkednek el egy egybefüggő sejtréteget alkotva.

diffúzió

A kémiai részecskék koncentráció kiegyenlítődésein alapuló anyagáramlása, mely esetén az anyagok a nagyobb koncentrációk felől a kisebb koncentrációjú területek felé haladnak.

evolúciósan stabil populáció

Olyan populáció, mely egy adott környezet esetén stabilan együtt él, az esetlegesen (kis számban) megjelenő mutációk nem képesek túlszaporodni rajta.

fizikai potenciálfüggvény

A tér egyes részein a különböző erőhatásokat leíró fizikai függvény.

invazivitás

Egy faj (például mutáns) invazívnak mondunk, ha egy vad típusú populációban kis számban megjelenve – néhány egyeddel képviselve – képes azt meghódítani, elszaporodni benne. Invazivitás alatt ezt a túlszaporodási képességet értjük.

kevert populáció

Egy populációt kevertnek mondunk, ha több fajból áll, és a fajok egyedei a térben egymással keveredve – nem pedig egymástól elszeparáltan – helyezkednek el.

összeomló populáció

Egy összeomló populáció alatt azt értjük, amikor az egyensúlyi végpopuláció kis számú egyedet tartalmaz annak ellenére, hogy korábban az egyedek képesek voltak átmenetileg elszaporodni, azonban nem voltak képesek a nagy egyedszámú populációt fenntartani.

parazitizmus

Több, például két faj együttélése, amikor az egyik fajnak (parazita) egyoldalú előnye származik az együttélésből a másik fajjal (gazdaszervezet) szemben.

rajzás

A baktériumok együttélésének egy formája, mely során az egyedek aktív mozgásban vannak, és különböző jelmolekulák segítségével képesek egymás közelében maradni.

szegregált populáció

Szegregált populáció alatt olyan populációt értünk, mely több fajból áll, és a fajok egymástól térben elkülönülve, szegregáltan vesznek benne részt.

úszás

A baktériumok vizes közegben, flagellájuk segítségével történő mozgása.

1. fejezet

Bevezetés

1.1. Irodalmi áttekintő

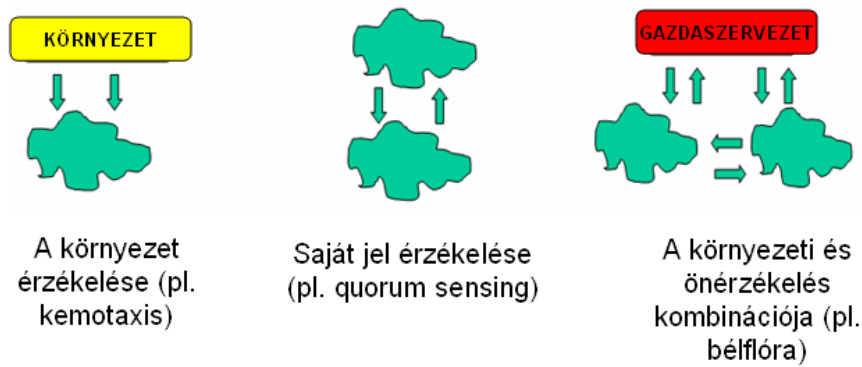
Dolgozatom témája tipikusan interdiszciplináris terület, melynek áttekintéséhez szükség van egyrészt a baktériumok, a bakteriális jelzőrendszerek és a bakteriális modellek áttekintésére. Mindehhez azt az utat választottam, hogy a biológiai háttérrel csak a legszükségesebb mértékben, a modellszervezetekre koncentrálni tekintem át, több súlyt helyezek a modellépítés leírására. Az áttekintés így nem teljesen egyenletes, de bízom benne, hogy a megértést elősegíti.

1.1.1. Biológiai háttér ismertetése

A baktériumok kommunikációs mechanizmusainak bemutatása

A baktériumok egysejtű élőlények, melyek a Föld minden élőhelyén megtalálhatóak, nem csak a vízben, levegőben, vagy az emberi bőrfelszínen, bélrendszerben, hanem olyan extrém körülmények között is képesek megélni, mint például a mélytengeri hőforrásokban, az atmoszférában, vagy éppen a nukleáris hulladékban [1]. Az emberiség az ipari ágazatokban sok helyen előszeretettel használja őket, mint például a gyógyszergyártásban, élelmiszerek készítésében, ám emellett természetesen a bakteriális fertőzések rengeteg (emberi) betegségnek az okozói. Ez a széleskörű megjelenési forma igazolja, miért is olyan fontos számunkra a baktériumpopulációk működésének minél pontosabb megértése, modellezése.

A természetes környezetben előforduló baktériumok legtöbbször nem egyedül, hanem mikrobiális közösségekbe szerveződve élnek. Megfigyelhető, hogy az így kialakult közösségek nem egyszerűen az egyes alkotóelemeiknek, az önálló baktériumoknak a halmazai, hanem közös együttműködéssel, sokkal komplexebb feladatok véghezvitelére képesek. Ezt az együttműködést az élővilágban az egyedek közötti kommunikáció és kooperáció teszi lehetővé. E két szó tartalma azonban nagyon változó a biológia egyes területein. A magasabb rendű élőlények például hangokkal, fényjelekkel, esetenként gesztusokkal is képesek kommunikálni. Halrajok ragadozóktól való menekülését például nagymértékben előse-



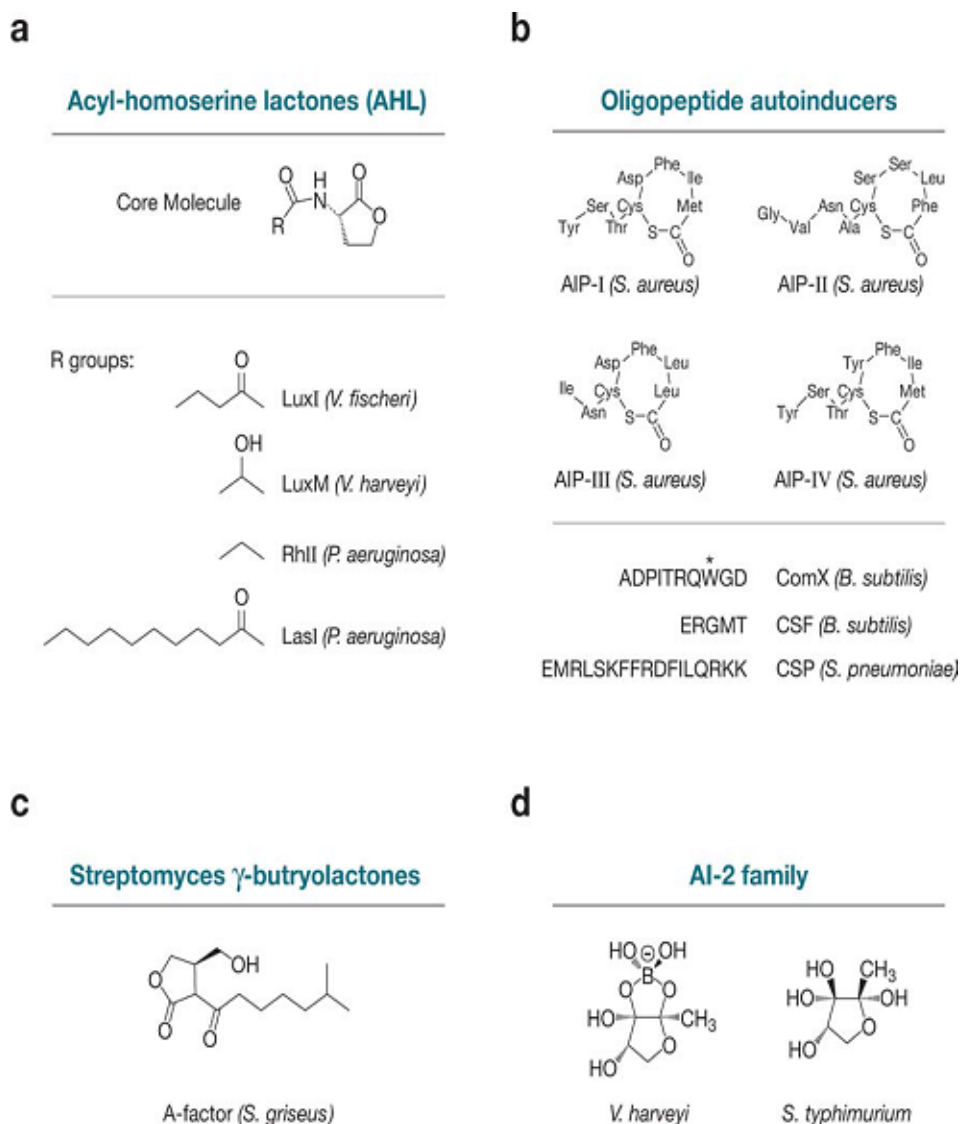
1.1.1. ábra: Bakteriális kommunikáció fajtái.

gíti a rajban való mozgás, az egyes egyedek önállóan nem feltétlenül lennének képesek elmenekülni egy-egy ilyen támadás elől.

A kommunikáció a baktériumok esetén kémiai jelekkel történik, mely jeleket termelni, érzékelni, valamint azokra válaszolni képesek az egyedek. Még ebben az egyszerű esetben is megkülönböztethetünk többféle alaphelyzetet. Például a baktérium válaszolhat a környezetében található anyagokra. Ennek tipikus példája a kemotaxis [2], melynek során a baktérium valamilyen kémiai molekula, pl. a tápanyag irányába mozdul el, vagy egy kellemetlen kémiai hatásról igyekszik távolodni.

A második, számunkra legfontosabb esetet az jelenti, mikor a baktérium a saját maga által termelt jelet érzékeli, és ennek hatására indítja be (vagy esetleg állítja le) bizonyos géneknek a működését. A biológia más területein ezt a szituációt autokrin jelzésnek nevezik. A baktériumok esetében a quorum sensing elnevezés terjedt el [3, 4], a latin eredetű szavazóképes többség névére utalva. A névválasztást az indokolja, hogy egy baktérium populáció belsejében mérhető jelkoncentráció általában nagyságrendileg arányos az egyedek számával, vagyis a koncentráció érzékelése révén a baktériumok mintegy a populáció nagyságát is képesek érzékelni [5, 6, 7]. Szabad környezetben ez valóban így is van, de mikropilláris környezetekben, mint amilyen például a növényeket behálózó tápanyagcsatornák rendszere, már néhány sejt is elő tudja idézni a gének beindításához elegendő, magas jelkoncentrációt, tehát a változás akkor is bekövetkezik, ha történetesen nincs jelen nagyobb számú sejt. Ez az igen plauzibilis jelenség egyébként vitára adott alkalmat, sokan vitatták a quorum sensing név jogosságát [8, 9].

Végül a teljesség kedvéért megemlítnék egy harmadik lehetőséget, melyben a baktériumok egyrészt egymás viselkedését módosítják, másrészt pedig kölcsönhatnak a környezettel [11]. Ennek legérdekesebb példája az emberi, vagy állati gazdaszervezettel együtt élő, újabb kifejezéssel mikrobiótának nevezett baktériumközösségek világa, mint amilyen például a bélflóra [12]. Ebben a környezetben temérdek baktériumfaj él együtt, melyek jelanyagok révén egymás viselkedését is befolyásolják, ugyanakkor aktív kölcsönhatásban vannak a gazdaszervezettel is, amely számukra speciális környezetet biztosít, és aktívan

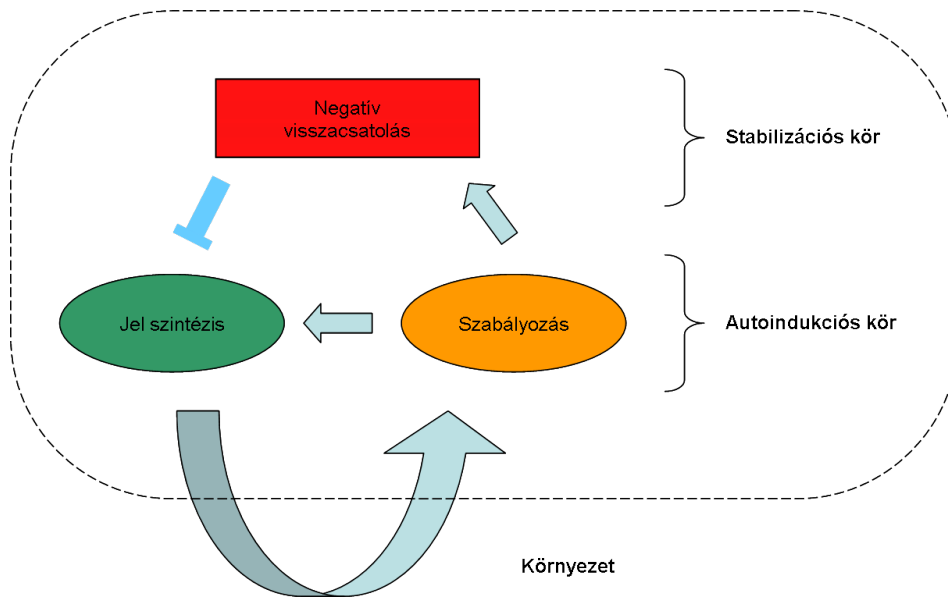


1.1.2. ábra: Baktériumok quorum sensing rendszerei által használt kémiai jelek típusai, Waters and Bassler munkája alapján [10]. Az ábrán található baktérium fajok: *Vibrio fischeri*, *Vibrio harveyi*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptomyces griseus*, *Salmonella typhimurium*.

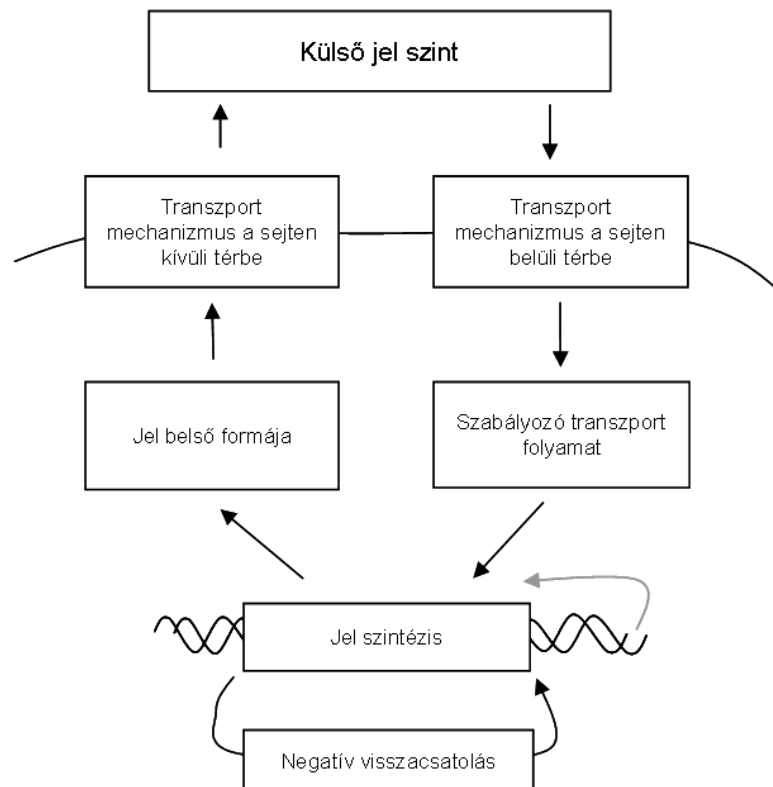
válaszol a baktériumközösség kémiai jelzéseire. Ennek a komplex együttműködésnek a kutatása a mai biológia egyik legfontosabb kérdése. Az említett háromféle kommunikációs fajtát az 1.1.1 ábra mutatja be.

A baktériumok világában sokfajta jelanyag ismeretes [13], ezek közül néhány, a bakteriális quorum sensing területén tanulmányozott jelanyag képletét az 1.1.2 ábra mutatja be [10, 14].

A jelek a Gram-negatív baktériumokban általában kismolekulák, a Gram-pozitív baktériumok viszont peptid jelzőrendszereket használnak. A sokféle kémiai szerkezet mögött azonban felfedezhetők közös mechanizmusok is. Például, a jelek szintézise mindig pozitívan csatol vissza önmagára, amit autoindukciónak nevezünk, ugyanakkor jelen van



1.1.3. ábra: Stabilizációs visszacsatolási mechanizmus a quorum sensing során.



1.1.4. ábra: A quorum sensing mechanizmus általános alkotóelemei.

1.1. táblázat: A quorum sensing alkotóelemei Gram-pozitív és Gram-negatív baktériumok esetén.

Mechanizmus	Gram-pozitív	Gram-pozitív 2	Gram-negatív
Jel szintézis	Peptid szintézis	Propeptid szintézis	Másodlagos metabolitok szintézise
Szintetizált jel alakja	Propeptid	Propeptid	Kismolekula, pl. AHL
Transzport folyamata a sejten kívüli térbe	Enzim modifikáció, feldolgozás, aktív transzport	Feldolgozás, aktív transzport	Diffúzió
Külső jel alakja	Peptid	Peptid	Kismolekula, pl. AHL
Transzport folyamata a sejten belüli térbe	HK transzmembrán receptor	Aktív transzport	Kismolekula, pl. AHL
Az átadott jel formája	Foszforiláció	Peptid	Kismolekula, pl. AHL
Transzmissziós mechanizmus	DNS kötő fehérje aktiválása	DNS-kötő fehérjéhez köt	DNS-kötő fehérjéhez köt
Szabályozás negatív visszacsatolással	Represszor fehérjék, RNS	Represszor fehérjék, RNS	Represszor fehérjék, enzimek, miRNS

egy negatív visszacsatolás is, mely megakadályozza, hogy a jeltermelés korlátok nélkül növekedjen [15, 16, 17, 18]. Ez utóbbit stabilizációs visszacsatolásnak szokták nevezni, az egész folyamat pedig inkoherens feed forward loop néven ismeretes (1.1.3 ábra).

A szabályzó kör működését az az elv biztosítja, hogy a jel (ahogy az 1.1.3 ábra vastag kék nyila mutatja) kikerül a környezetbe, ahol eldiffundálhat, lebomolhat, stb. vagyis a sejt közvetlenül csatolva van a környezethez. A környezeti csatolást a Gram-negatív baktériumok többségénél a kismolekulák számára átjárható sejtmembránon keresztül történő egyszerű diffúzió biztosítja. Nagyobb jelmolekuláknál, tipikusan a Gram-pozitív baktériumok peptid jeleinél azonban az export és az import folyamatait külön fehérjék végzik. Ezeket az általános mechanizmusokat összegzi az 1.1.4 ábra, illetve az 1.1 táblázat.

A felsorolt szabályzási elemeket és elveket az egyes baktériumokban nagyon eltérő molekuláris mechanizmusok valósítják meg, ezek áttekintésére itt nincs lehetőség. Ehelyett először áttérek a modellezéshez használt baktérium faj (*Pseudomonas aeruginosa*) és annak jelzőrendszereinek részletes bemutatására, majd annak érdekében, hogy kicsit

átfogóbb képet adhassak a quorum sensing mechanizmusáról, röviden ismertetem két egyéb faj (*Vibrio fischeri* és *Bacillus subtilis*) kommunikációs rendszereit is.

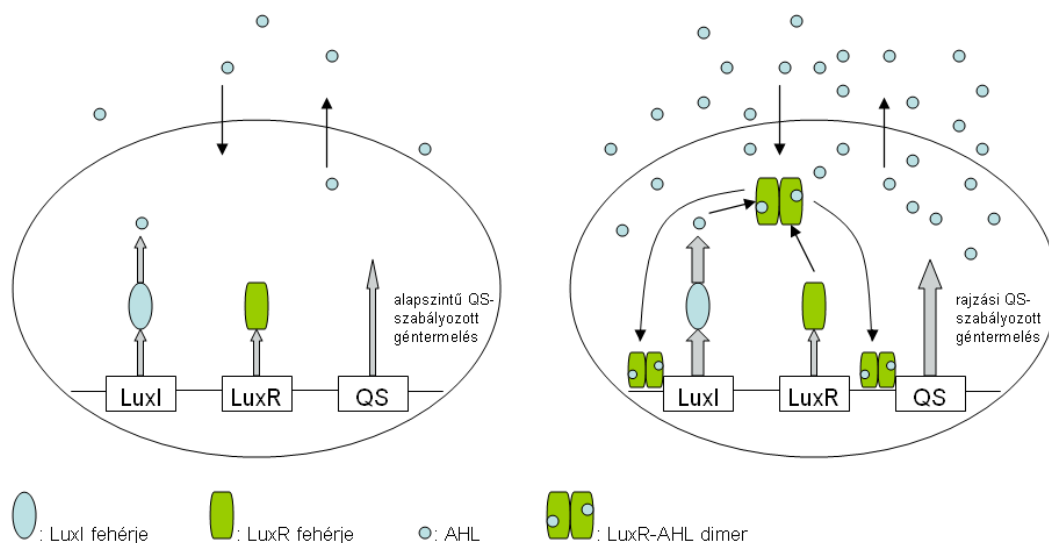
A *Pseudomonas aeruginosa* és quorum sensing rendszerei

A *Pseudomonas aeruginosa* egy Gram-negatív baktérium, mely opportunistá patogén emberek, állatok, valamint növények esetén is [19]. A Gram-negatív, vagy Gram-pozitív csoportosítás a baktériumok egy empirikus osztályozási módja, mely egy festési eljárással könnyen meghatározható – a Gram-pozitív baktériumok kékeslilára, míg a Gram-negatívok inkább rózsaszín árnyalatúra színeződnek. Ezt az eltérést a sejtfalukban található lipidek közötti különbségek okozzák, ám egyéb különbség is van a két csoport tagjai között, így meglehetősen elterjedt csoportosítási módszerre vált a baktériumok körében. Az opportunistá patogén megnevezés azt jelenti, hogy egészséges szervezetet nem támad meg, de olykor kórokozóvá tud válni, ezáltal komoly fertőzéseket okozva emberekben, állatokban, illetve növényekben. Általában nedves, vizes környezetekben szeret élni, ezért például az emberi tüdő is egy kedvelt élettere. A tüdőben megtelepedve egészséges emberekben nem okoz betegséget, ám cisztás fibrózisban szenvedő betegek esetén képes elszaporodni a tüdőhártyán, ahol idővel biofilmréteget képez, amely szinte mindig a betegek halálához vezet [20]. Óriási problémát okoz, hogy a *P. aeruginosa* az antibiotikumokra rezisztens, így még nehezebb az ellene való küzdelem [21].

A *P. aeruginosa* az ún. acil-homoszerin-lakton (AHL) molekulákkal kommunikál, ez a Gram-negatív baktériumok kommunikációja során leggyakrabban használt jelmolekulák csoportja. Az AHL molekula egy jól konzervált homoszerin-lakton gyűrűből, illetve egy acil oldalláncból áll, mely megjelenése változatos [14]. Ez a változatosság teszi lehetővé, hogy a fajok hasonló rendszeren keresztül, mégis egymástól elkülönülten, csak a saját fajukhoz tartozó egyedekkel tudjanak kommunikálni. Az AHL molekulák általában kisméretűek, így szabadon tudnak diffundálni a sejtfalon keresztül.

Az AHL molekulákat egy LuxI típusú fehérje termeli, mely előállítás a szintén *luxI* nevű génnek köszönhető. Mikor az AHL molekulák koncentrációja elér egy bizonyos szintet és ezáltal a sejten belüli térben is felszaporodik mennyisége, képesek egy LuxR típusú fehérjéhez (melyet a *luxR* gén termel) kapcsolódni. A kialakult LuxR-AHL komplex dimerizált formája különféle sejtszintű folyamatok beindítását kezdi meg. A komplex hatására egyrészt fokozódik a jelmolekulák termelődése, ezzel egy autoindukciós kört képezve, másrészt olyan enzimek termelődése indul meg, melyek a baktérium közösség rajzását segítik elő [4]. Ezek lehetnek például felületaktív anyagok, rhamnolipidek, melyek nyálkaréteget képezve segítik a kolónia gyorsabb mozgását, vagy bizonyos emésztő anyagok, melyek elengedhetetlenek a támadás véghezviteléhez [14, 22].

A tipikusan rajzási állapotban előállított anyagokat szokták faktor molekuláknak, vagy „közjavaknak” nevezni [14, 22]. Olyan molekulák ezek, melyek ugyan elengedhetetlenek a sikeres rajzáshoz, ám előállítási költségük magas, így nem képesek az egyedek



1.1.5. ábra: Alapállapot (bal oldal) és rajzási állapot (jobb oldal) alatt lejátszódó folyamatok baktérium sejteken belül; alapállapotban a *luxI* gén a LuxI fehérjét termeli, mely az AHL jelmolekulákat állítja elő, a *luxR* gén inaktív LuxR fehérjét termel, továbbá megfigyelhető a QS-szabályozott gének alapszintű termelése; rajzási állapotban a jelszint megemelkedik, az aktív, jelből és LuxR fehérjéből képzett komplex dimere fokozza a jeltermelést, valamint megindítja a rajzási QS-szabályozott géntermelést.

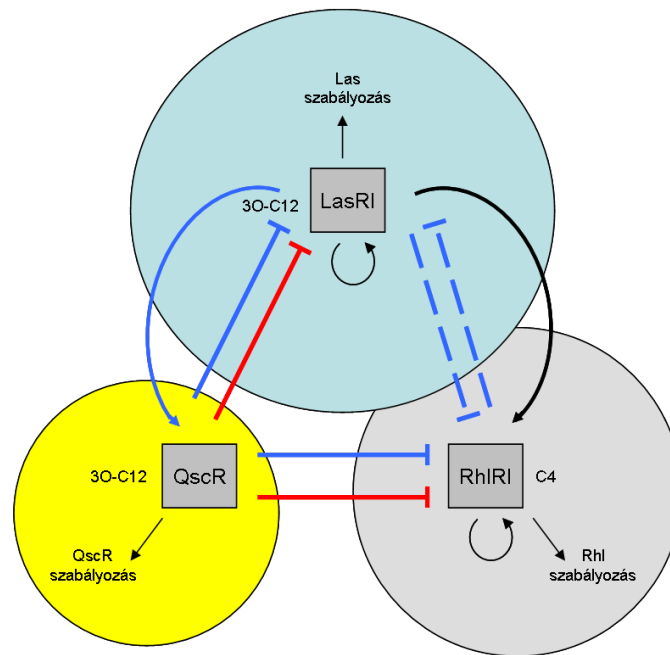
állandóan – alapállapotban is – termelni őket. Ezért fontos a kommunikáció során ez a két lépcsős mechanizmus, mely lehetővé teszi, hogy a baktériumok kellő egyedszám esetén koordináltan tudják létrehozni a rajzáshoz szükséges enzimeket.

A faktor anyagok termelése mellett egyéb folyamatok is beindulnak a baktériumokban a rajzási állapot során, mely lehetővé teszi, hogy például gyorsabban mozogjanak, megnőjön a metabolizmusuk, tápanyagfelvételük. Ezt a felfokozott állapotot nevezhetjük aktív, rajzási állapotnak. Az alapállapot és rajzási állapot közötti különbségeket az 1.1.5 ábrán követhetjük nyomon.

A jelek termelését, mint egymás közötti kommunikációt, míg a faktorok előállítását az egymással való kooperációként értelmezhetjük. Ezt a két elnevezést az irodalomban is gyakran használják.

A baktériumok tehát a jelmolekulák koncentrációját érzékelik. A koncentráció megnövekedése egyrészt a fent említett módon tud kialakulni, vagyis sok baktérium jelenlétében, ám emellett elérhető úgy is, ha kis térrészben helyezkedik el csupán néhány baktérium. Az egyedek e két állapot között nem tudnak különbséget tenni, ám utóbbi esetben az egyedek nem képesek a sikeres rajzást véghezvinni, hiszen nincsenek kellő mennyiségben hozzá.

Vannak baktériumok, melyek csak egyetlen QS rendszerrel kommunikálnak [25, 26], ám gyakori, hogy több ilyen rendszert is találhatunk egy adott faj esetén. A *Pseudo-*

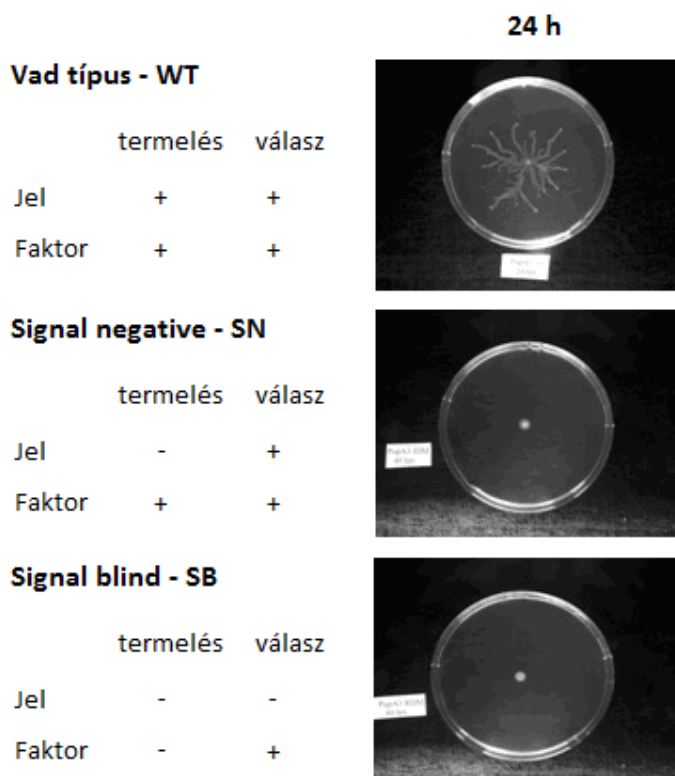


1.1.6. ábra: Quorum sensing szabályozási hálózat a *P. aeruginosa* esetén; a fekete nyilak a közvetlen transzkripciós szabályozást, a kék nyilak a fehérje-AHL kölcsönhatásokat, a piros nyilak pedig a fehérje-fehérje kölcsönhatásokat jelölik; a folytonos nyilak az irodalomban elfogadott kapcsolatokat, a szaggatott nyilak az újabb eredmények alapján feltételezett kapcsolatokat mutatják; a körök a transzkripció autoindukció alatt álló géneket jelölik. Ábra forrása: [23, 24].

monas aeruginosa esetén két AHL-QS rendszert különböztethetünk meg, egyik a LasIR, másik az RhlIR rendszer [27, 28]. A kommunikáció során az ún. *las* szabályzórendszerben képződő LasR szabályozó fehérje elindítja, illetve fokozza az elasztáz emésztőenzim termelését, amelyet a *lasA* gén kódol [29, 30, 31, 32]. A másik, az ún. *rhl* rendszerben az RhlR fehérje a rhamnolipidek előállítását szabályozza, itt az *rhlA* és *rhlB* gének beindítása jelenti a szabályozás eredményét [33, 32]. A két rendszer összekapcsolódása tovább fokozza a kialakult viselkedési mintázatok komplexitását.

Végül van egy harmadik, inkomplett rendszer is, az ún. QscR rendszer, amelynek nincs saját szintézis rendszere, hanem a *las* rendszer jelére reagál, és negatívan csatol vissza a *las* és *rhl* rendszerekre [23, 24]. Ennek a komplex hálózatnak a regulációs lehetőségeit mutatja be az 1.1.6 ábra.

Azokat az egyedeket, melyek a fent ismertetett quorum sensing jelenségének minden aspektusát képesek megvalósítani (azaz jelet termelnek, érzékelik a környezeti jel koncentrációt, valamint válaszolnak is arra a jeltermelés fokozásával, illetve a faktorok termelésének elindításával) vad típusú (wild type, WT) egyedeknek nevezzük. Ezek az egyedek, ha mesterséges körülmények között, Petri csészében tenyésztjük őket, rajzás során fraktálszerű mintázatokat hoznak létre. A laboratóriumi modellezés azonban korántsem egyszerű. Először is, ha a sejtek minden könnyen felszívható tápanyaggal jól el



1.1.7. ábra: Három baktérium faj futtatása során megfigyelhető mintázatok: WT (fent) fraktálszerű, rajzó populációt, míg az SN (középen) és az SB (alul) a kezdeti populációval gyakorlatilag megegyező populációt hoz létre. Ábra forrása: [34]

vannak látva, mint például a közönségesen használt húsleves alapú táptalajokon, akkor nincs szükségük sem quorum sensingre, sem rajzára, éppen ezért egyszerű, cirkuláris kolóniákat növesztenek. Speciális, tápanyagszegény agar-táptalaj kell ahhoz, hogy a quorum sensing rendszerek tényleg szükségesek legyenek a növekedéshez, de a rajzásra jellemző fraktálszerű mintázat így is csak akkor jön létre, ha az agarlemez viszkozitását és sűrűségét bizonyos korlátok között tartjuk [35].

A quorum sensing folyamatát szabályozó gének funkcióját jobban megérthetjük, ha különböző deléciós mutációkat definiálunk, mely mutációk a természetben is fellelhetők [36, 37, 34]. Azok az egyedek, melyek esetén a *luxI* gént töröljük, nem lesznek képesek jelet termelni, ezért szokták őket signal negative (SN) mutánsoknak nevezni. Habár jelet termelni nem tudnak, annak megnövekvő koncentrációjára képesek reagálni működő *luxR* génjük segítségével. Más szóval az egyedek nem kommunikálnak, de a költséges anyagok előállításának segítségével kialakuló kooperációból kiveszik részüket. SN mutánsokat önmagukban, külső jel hozzáadása nélkül futtatva egy pontszerű, kis populációt figyelhetünk meg, hiszen jeltermelés nélkül nem lesznek képesek a rajzást megindítani az egyedek. A másik deléciós mutáció esetén, mikor a *luxR* gén törlődik, a jeltermelés továbbra is fenn marad, ám annak küszöb feletti szintjére az egyedek nem lesznek képesek válaszolni

sem a jeltermelés fokozásával, sem a faktortermelés elindításával, ezért szokták signal blind (SB) mutánsoknak nevezni őket. Más szavakkal megfogalmazva az SB mutánsok kismértékben kommunikálnak, de nem kooperálnak. Ha Petri csészében, agar lemezen futtatjuk az SB egyedeket, az SN-ekéhez hasonló mintázatot figyelhetünk meg, hiszen hiába termelnek jelet a baktériumok, rajzási állapotba nem tudnak kerülni. A három ismertetett kísérletről az 1.1.7 ábrán láthatunk egy összefoglalást.

Az SN és SB mutánsokat szokták „csaló” egyedeknek is nevezni. Vad típusú egyedekkel (hosszabb-rövidebb ideig) közösen tudnak élni, és képesek kihasználni az általuk kialakított rajzó populáció előnyeit, miközben azáltal, hogy a termelési folyamatnak csak bizonyos lépéseiben veszik ki a részüket, sokkal nagyobb energiatöbbletet képesek felhalmozni WT társaiknál. Ebben a tekintetben az SN egyedek viszonylag kis előnyre tesznek szert, mert a kommunikáció nem igényel nagy energiát. Ezzel ellentétben a kooperáció – melyhez például a *P. aeruginosa* esetében egy enzim (az elasztáz) és a rajzáshoz szükséges rhamnolipid nyálkaanyag folyamatos termelésére és a környezetbe való kibocsátására van szükség – sokkal több energiát igényel. Éppen ezért az SB egyedek sokkal nagyobb előnyben vannak a vad típussal szemben, így sokkal veszélyesebb „csalók”, mint az SN mutánsok.

Quorum sensing rendszerek *Vibrio fischeri* és *Bacillus subtilis* baktériumok esetén

Az alábbi fejezettel célom, hogy néhány faj esetén – melyek QS rendszere jól ismert a különböző irodalmakból – röviden szemléltessem, hogy a természetben megfigyelhető quorum érzékelés milyen sokféle módon, sokféle rendszeren keresztül tud megvalósulni.

A *Vibrio fischeri* egy Gram-negatív baktérium faj, mely elsősorban tengervizekben él. Jellegzetessége, hogy biolumineszcencia segítségével fény kibocsátására képes, mely mechanizmust a quorum sensing szabályoz. Ennek megfelelően kis (alacsony sejtsűrűségű) populációkban nem figyelhető meg a jelenség. A *V. fischeri* egyedek gyakran tintahalakkal, illetve más tengeri halakkal szimbiózisban élnek, mely egyedek egy stabil, állandó tápanyagforrást tudnak nyújtani a baktériumoknak, cserébe a lumineszcenciát kihasználva a halak egyfajta védelemben részesülnek a ragadozókkal szemben, akik a kibocsátott fényt, mint a Hold megvilágítása értelmezik.

A *V. fischeri* két, egymással szoros kapcsolatban álló quorum sensing rendszerrel rendelkezik, a *lux*, illetve az *ain* rendszerrel. Az *ain* rendszer a lumineszcenciát kisebb, a *lux* rendszer bekapcsolásához még nem elegendő sejtsűrűség esetén aktiválja. Ezáltal a két rendszer szerepe eltérő a szimbiózis kialakításában, az *ain* rendszer inkább az együttélés korai fázisában jelentős mechanizmusokat, pl. mozgást szabályozza, míg a *lux* rendszer a későbbieket, amilyen a lumineszcencia [38].

A *lux* rendszer a *P. aeruginosa* esetén ismertetett rendszerekhez hasonlóan működik. A *luxI* gén egy AHL jelmolekulát termel, mely a *luxR* gén által termelt LuxR fehérjéhez

kötve különböző gének szintézisét képes elindítani [38]. A másik QS rendszer szintén egy AHL jelmolekula hatására aktiválódik, ez a rendszer egy luxM típusú enzim, az AinS működésén alapszik. Alacsony sejtsűrűség esetén a lumineszcenciát a LuxO gátolja. Közepes sejtsűrűség esetén az AinS által előállított jel hatására ez a gátlás feloldódik, illetve a LuxR-rel alkotott direkt kapcsolat hatására a lumineszcencia-szabályozott gének termelése is megindul.

A *Bacillus subtilis* egy Gram-pozitív baktérium faj, mely extrém körülmények között (pl. magas hőmérséklet) is megél. Megtalálható a termőföldekben éppúgy, mint az emberi bélflórában, ám fertőző betegséget csak igen ritkán okoz, egészséges emberek esetén probiotikumnak tekinthetjük.

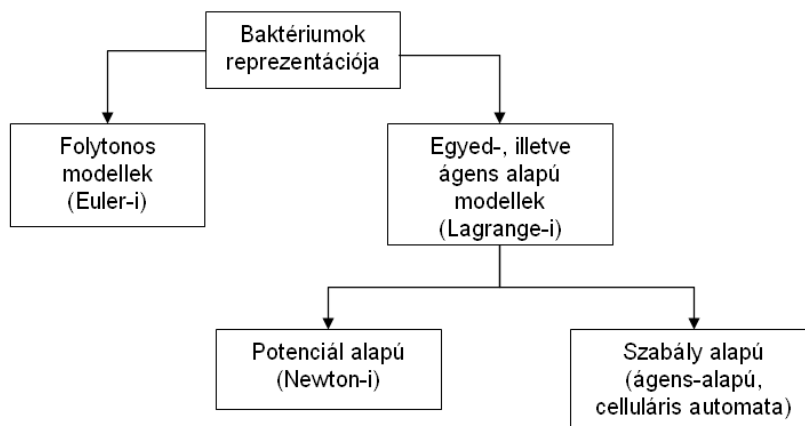
A *B. subtilis* egyedek – mint a Gram-pozitív egyedek általában – az AHL molekulák helyett peptideket használnak jelmolekulának. Ezek a molekulák nagyobbak, így nem tudnak szabadon diffundálni a sejten belüli és sejten kívüli tér között, aktív transzportra van ehhez szükségük. A ComQXPA QS rendszer négy fehérjéből áll – ComQ, ComX, ComP és ComA. A ComX a jelmolekula, mely poszttranszlációs módosulásáért a ComQ felelős. A ComP egy transzmembrán fehérje, mely képes megkötni a jelmolekulát, és annak hatására egy foszforilációs folyamat segítségével aktiválja a ComA fehérjét, mely képes a sejten belül a QS szabályozott gének felszabályozását beindítani [39, 40].

A *B. subtilis* baktériumok esetén egyéb jelmolekulákat is megfigyelhetünk (CSF, PhrF, PhrK és PhrH), melyek mind a ComA transzkripció faktor aktiválását szolgálják. Az oka, hogy ennyi molekula felelős ugyanannak a rendszernek az aktiválásáért abban rejlik, hogy a jelmolekulák között találhatunk olyanokat, melyek faj specifikusak (pl. ComX), illetve olyanokat is, melyek sokkal konzerváltabb, más fajok által is termelt molekulák (pl. CSF), ezáltal a *B. subtilis* egyedek képesek szelektíven, mégis ugyanazon a QS rendszeren keresztül érzékelni a saját fajukhoz, illetve a velük közeli rokonságban álló fajokhoz tartozó egyedeket is [41].

1.1.2. Baktériumok modellezése, a modell típusok osztályozása

Az állatvilágban, valamint a baktériumok világában megfigyelhető mozgási-, szaporodási- és kommunikációs szokások, illetve mintázatok leírására számos modell típussal találkozhatunk a különféle szakirodalmakban. Ezek mindegyike szükséges, értékes modell, melyek sokszínűségét a létrehozóik által megválaszolni kívánt kérdések indokolják. Egy bakteriális kolónia esetén sem mindegy például, hogy a kommunikáció során lejátszódó folyamatok megértése, vagy a kolónia résztvevő egyedszámának valósághű időbeli alakulásának leírása a célunk. A modell kialakítása során ennek függvényében tehát más és más részletek kidolgozására kell hangsúlyt fektetni.

A modell típusok esetén többféle csoportosítási módszer képzelhető el, az alábbiakban egy újszerű, csoportunk által kitalált osztályozást mutatok be. Ennek alapvető gondolata, hogy a modelleket az egyes részek reprezentációja alapján csoportosítjuk, mely éppen a



1.1.8. ábra: Baktériumok reprezentálásának módszerei.

fenti gondolatmenet megkönnyítését szolgálhatja. Külön tárgyalhatjuk, tehát például a baktériumok, illetve az őket körülvevő környezeti elemek ábrázolását.

A baktériumok reprezentációja

Baktérium populációk leírására létrehozott modellek középpontjában természetesen mindig maguk az ábrázolni kívánt baktériumok állnak, ennek ellenére azok ábrázolása is eltérő a különböző megvalósítások esetén. Az irodalomban fellelhető különböző megoldásokat az 1.1.8 ábra foglalja össze.

Bizonyos modellek esetén elegendő a kolóniát, mint folytonos tömeg ábrázolni. Úgy képzelhetjük ezt el, mint egy környezetben diffúzióval mozogni képes anyag, mely nincsen az egyes alkotóelemei szintjén ábrázolva. Ezen modellek diffúziós, vagy reakció-diffúziós egyenletekkel írják le a baktériumok viselkedését [35].

Részletesebb modellt kapunk azonban, ha az egyedeket külön-külön ábrázoljuk, ezért ez a fajta leírás elterjedtebb az irodalomban. Az egyedek viselkedését, mozgását két különböző módon értelmezhetjük. Egyrészt definiálhatunk az egyedek között fellépő fizikai erőhatásokat, másrészt megadhatunk egyfajta szabályrendszert, mely segítségével minden lépésben egy döntési eljárást hajtanak végre az egyes baktériumok, és ennek megfelelően cselekszenek.

Az egyedek közötti kölcsönhatásokat potenciálok segítségével leíró modelleket szokták Newton-i modelleknek is nevezni. Leggyakrabban a Lennard-Jones potenciálokat [42], illetve azok továbbfejlesztett változatait, mint például a Weeks-Chandler-Andersen potenciált használják [43] ilyen problémák leírására, melyeket eredetileg az atomok között fellépő Van der Waals kölcsönhatások jellemzésére hoztak létre. Mindkét potenciál esetén, ha a részecskék egymáshoz nagyon közel kerülnek, taszítják egymást – ezzel biztosítva, hogy két molekula, vagy esetünkben baktérium ne kerülhessen ugyanazon pozícióba. A Lennard-Jones potenciállal egymást vonzó részecskék között fellépő erő írható fel, így beszélhetünk egy optimális távolságról, ahol a maximális vonzás alakul ki közöttük, ahogy

egyre távolabb kerülnek egymástól, úgy a közöttük fellépő erő nullához tart. Ezzel elmentében a Weeks-Chandler-Andersen potenciált egymást taszító részecskék leírására használják, az egymás közelében megfigyelhető taszítás térben lecseng, értéke nullához tart. A potenciálok leírásával részletesebben a 3.3. fejezet foglalkozik.

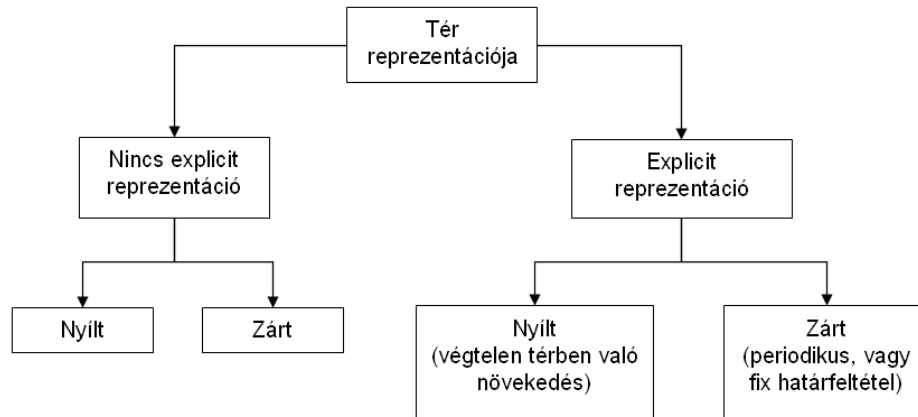
A másik módszer, melyet gyakran használnak állat rajok egyed szintű viselkedésének leírására az úgynevezett szabály-, vagy ágens-alapú megközelítés.

Az általam használt modellben ágens-alapú modellezéssel ábrázoltuk a baktériumokat. Az ágens elnevezés 1956-ból John McCarthy-tól származik. Az ágenseknek a mai napig nem létezik egzakt definíciója. Egy olyan számítási egységként értelmezhetjük, mely működése, viselkedése az egymást követő döntések meghozatalán alapszik. Az ágenseket gyakran szokták szenzorakkal (melyek segítségével érzékelni képesek saját környezetüket, annak bizonyos aspektusait) és effektorakkal (melyekkel a környezetük működését befolyásolni képesek) definiálni [44]. Az ágensek tehát érzékelik szenzorakkal környezetüket, majd ezen információk, valamint saját belső állapotuk (döntési mechanizmusuk) alapján döntenek arról, hogy a következő lépésben mit tegyenek. Ez a döntés pedig kihat a környezetre. Maga a döntés különböző bonyolultságú lehet, rendelkezhet például memóriával az adott egyed, így korábbi tapasztalatait felhasználva dönthet, vagy adott esetben predikálhatja, mely cselekedetének milyen következménye lehet, és ez alapján is választhatja a számára legkedvezőbb lépést [45].

Szintén a szabály-alapú modellek csoportjába sorolhatjuk a celluláris automatákat. Itt egy rács-struktúrán értelmezett sejt állapotát az adott időpillanatban a környezetében található sejtek előző állapotai alapján számolja. A sejtautomaták térben és időben diszkrét modellek, melyek egy tetszőleges, szabályos rács struktúrán értelmezik a teret, a modellezett sejtek ezen a rácson helyezkednek el. Minden sejthez egy állapotot rendelhetünk, mely állapotok száma véges, továbbá diszkrét időpillanatonként szinkron módon frissül. Egy adott sejt állapotát a környezetében aktuálisan jelent lévő sejtek állapotából, bizonyos szabályrendszer szerint számolja, vagyis a modell mindig egy lokális szomszédságon alapszik, a szomszédsági szabályokat, valamint a használt rács struktúrát az adott feladat szabja meg [46, 47, 48]. A sejtautomata modellek játékelméleti alkalmazásainak kiterjedt önálló irodalma van, ennek ismertetése azonban túlmenne dolgozatom határain. Kitűnő és alapos összefoglalót találhatunk például Szabó György [49] és és Czárán Tamás [50] munkáiban. A továbbiakban a tápanyagokat és jeleket konkrétan ábrázoló modellekre koncentrálnunk.

A tér reprezentációja

Az 1.1.9 ábrán látható a baktériumokat körülvevő tér ábrázolására született különböző megoldások összefoglalása. Bizonyos egyszerű modelleknél a teret explicit módon nem is ábrázolják. Legtöbb esetben azonban fontos, hogy milyen környezetben képzeljük el a modellt, így azt valamilyen koordináta-rendszerbe kell helyezzük. A tér ábrázolása



1.1.9. ábra: Tér reprezentálásának módszerei.

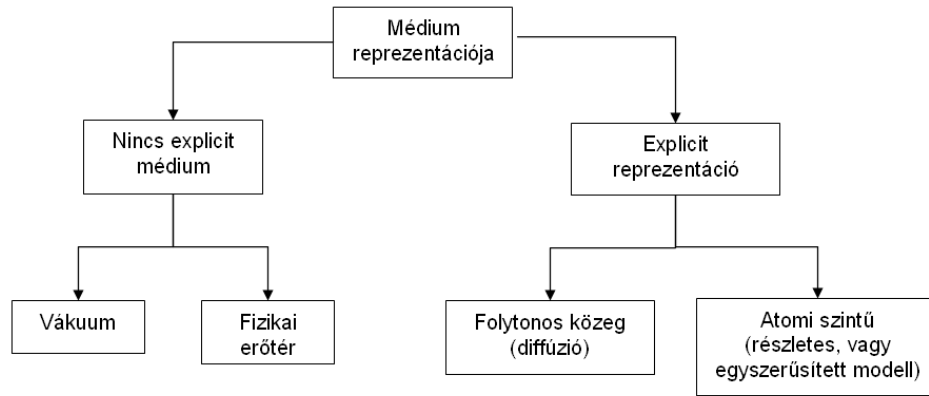
történhet 1, 2, vagy 3 dimenzióban, állat-csoportok esetén leggyakoribb természetesen a síkon, vagy térben történő ábrázolás.

Bármelyik esetet is választjuk, maga a tér lehet nyílt, vagy zárt. Nyíltnek akkor mondhatjuk a teret, ha azt - legalábbis a szimulációk idejét tekintve - végtelennek ábrázoljuk. Ez azt jelenti, hogy például a baktériumok mindig tudnak tovább haladni, sosem érik el az általunk definiált tér határát. Zárt tér esetén épp ellenkezőleg az egyedek a szimuláció során elérhetik a tér határát. Lényeges megfontolás, hogy milyen peremfeltétellel dolgozunk ilyen esetben. Választhatunk fix, vagy periodikus határfeltételt is. Fix esetben egy fizikai „falat” képzelhetünk el, ha egy adott egyed eléri ezt a határt, annak „nekiütközik”, nem tud tovább menni. Periodikus határt úgy képzelhetünk el, mint egy zárt felületet, például egy gömböt. Ha például két dimenzióban egy téglalapként ábrázolunk egy ilyen teret, akkor minden egyed, aki egyik oldalon „lelépne” a térről, az átellenes oldalon megjelenik. Ezzel is bizonyos tekintetben végtelenné tesszük a teret, ám fontos különbség a nyílt rendszerekhez képest, hogy ilyenkor a környezeti médium a benne található kémiai anyagokkal nem frissül, vagyis ilyen megoldással az egyedek nem fognak újra és újra, még kiaknázatlan tápanyagforrásokat felfedezni.

A mi esetünkben a táptalajt két dimenzióban, egy téglalap felületként ábrázoltuk. Létezik egy nyílt és egy zárt megvalósítás is, melyeket a későbbi fejezetek során részletesen bemutatok.

A médium reprezentációja

Állatrajak modellezésekor egy másik, igen fontos tényező, mely leírását meg kell valósítani, az egyedeket körülvevő környezet. Vannak modellek, ahol nincsen a médium explicit módon ábrázolva. Elképzelhető adott esetben, hogy egyáltalán nincsen szükség a szimuláció szempontjából a médium leírására, ez előfordulhat például egy „vákuumszerű” tér ábrázolásakor. Más esetekben fizikai erőhatásokként értelmezik a médiumot. Erre példa lehet, ha egy a raj mozgását úgynevezett tereptárgyakkal teli térben vizs-



1.1.10. ábra: A baktériumokat körülvevő médium ábrázolásának módszerei.

gálják, ahol a tárgyak kikerülése érdekében azokat nagy, taszító erőhatásként értelmezik [45].

Gyakori emellett a médium explicit módon történő ábrázolása is. Bizonyos esetekben szükségessé válhat a környezet részecske-szintű ábrázolása, mely az egyszerű leírásoktól egészen az atomi-szint részletezéséig is vezethet.

Baktérium kolóniák esetén leggyakrabban a környezeti médiumot explicit módon, ám egy folytonos közegként ábrázolják. Ebben a közegben az egyes anyagok diffundálni képesek, termelődnek, vagy éppen fogynak. A mi modellünkben is így ábrázoltuk a környezeti anyagokat, mely magában foglalja a tápanyagot, mely idővel fogy, valamint az egyedek kommunikációjához szükséges jelmolekulákat és faktorokat, melyek mennyisége nő, ahogy az egyes egyedek termelik azokat a szimuláció során. Mivel célunk a bakteriális kommunikáció modellezése, esetünkben fontos volt, hogy a folyamat során részt vevő anyagok időbeli terjedését minél pontosabban ábrázoljuk.

A diffúzió az a jelenség, mely során a nagyobb koncentrációjú térből a kisebb koncentrációjú felé haladnak bizonyos molekulák. Ezeknek a molekuláknak a terjedését a Fick törvényekkel írhatjuk le [51].

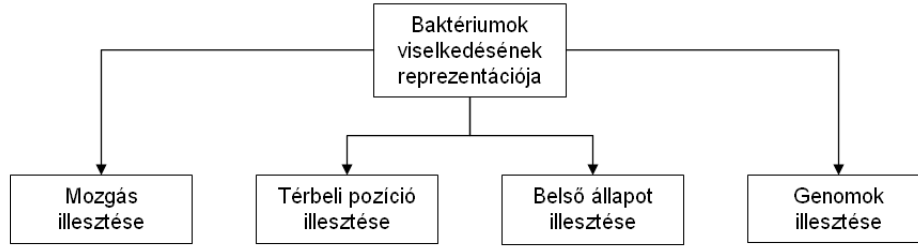
$$J = -D \cdot \frac{\partial \phi}{\partial x} \quad (1.1.1)$$

ahol J a diffúziós fluxus, vagyis az egységnyi felületen, egységnyi idő alatt áthaladó anyagmennyiség, D a diffúziós állandó, ϕ a koncentráció és x a pozíció.

Az 1.1.1 egyenlet, vagyis Fick első törvénye a diffúziós fluxus koncentrációtól való függését adja meg. A diffúzió mértékét a diffúziós együttható szabályozza. A negatív előjel jelzi az anyag kisebb koncentrációjú területek felé való haladását.

$$\frac{\partial \phi}{\partial t} = D \cdot \frac{\partial^2 \phi}{\partial x^2} \quad (1.1.2)$$

Fick 2. törvénye (1.1.2) egyenlet) a koncentráció időbeli változását adja meg, melyet a koncentráció pozíció szerinti második deriváltja segítségével számolhatunk ki.



1.1.11. ábra: Baktériumok viselkedésének reprezentációja.

Anyagok koncentrációjának időbeli változását reakció-diffúziós egyenletek segítségével is felírhatjuk. A reakció-diffúziós egyenletek két részből állnak, egyrészt a fentiekhez hasonló diffúziós tagból, mely az anyag időbeli terjedését reprezentálja, másrészt egy reakciós tagból, mely a környezettel való kölcsönhatást mutatja meg.

Az 1.1.3 egyenlet például egy idővel bomló anyag (u) mennyiségének megváltozását írhatja le egy két dimenziós térben. Az első, diffúziós tag hasonlít az 1.1.2 egyenletre, csak síkban felírva, míg a második, reakciós tag az anyag bomlását írja le, mely az anyagmennyiséggel, és az R bomlási állandóval egyenesen arányos.

$$\frac{\partial u}{\partial t} = D \cdot \left(\frac{\partial^2 u}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 u}{\partial y^2} \right) - Ru \quad (1.1.3)$$

A baktériumokat körülvevő médium ábrázolásának módszerei az 1.1.10 ábrán láthatóak.

A baktériumok viselkedésének reprezentációja

Kolóniákban, rajokban való részvétel esetén általában fontos az, hogy az egyedek valamilyen közös cél felé összpontosítsanak, egységes viselkedési mintázatot alakítsanak ki. Ezt az egységes viselkedést definiálhatjuk az egyes egyedek bizonyos aspektusainak, tulajdonságainak a koordinációjával, összehangolásával is. Egy egyszerű példa erre a Reynolds modellben [45] is megtalálható sebesség, vagy mozgási irány illesztése.

Kiterjeszthetjük ezt a szemléletet az egyedek belső állapotainak illesztésére is. Ez jelenthet például metabolikus koordinációt, mely mögött az a megfontolás húzódik, miszerint a hasonló helyzetben lévő egyedek hasonló mennyiségű tápanyagot fogyasztanak, melyből hasonló mennyiséget használnak fel a létfenntartás biztosítására, stb. Másik példa lehet a belső állapot koordinációjára, ha egy modellben az egyedek osztódása csak saját belső állapotukon múlik, pl. elérnek-e egy bizonyos belső energia szintet, vagy nem. Továbbá érdekes terület a genetikai állomány koordinálása, mely lehetővé teszi a horizontális gén transzfernek a gének diffúziójával történő ábrázolását [52]. Horizontális gén transzfer alatt azt a folyamatot értjük, mely során az egyedek képesek leadni, majd környezetükből felvenni a mások által leadott géneket.

Modellünkben az egyes egyedek belső állapotai koordinálva vannak, továbbá a ho-

rizontális gén transzfer ily módon történő ábrázolásával is foglalkozott csoportunk a közelmúltban [52].

A baktériumok viselkedésének leírására született megoldásokról egy összefoglalás az 1.1.11 ábrán látható.

Néhány konkrét modell részletes ismertetése

Az alábbi fejezetben néhány modellt mutatok be részletesebben, melyek mindegyike állatrajok viselkedésének leírására született meg. Mindegyik modell esetén bemutatom, annak mely részei alkalmasak az általunk elképzelt quorum sensing jelenségének leírására, végül röviden összefoglalom, hogy ennek megfelelően a modellünk építésénél milyen megoldásokat választottunk, valamint hogy a fenti osztályozási módszer tekintetében mely csoportokba sorolhatjuk a saját modellünket.

Reynolds modell – ágens alapú modell

Craig W. Reynolds, 1987-ben publikált munkájában madár rajok mozgásának leírására egy ágens-alapú megközelítést mutatott be [45]. A modell ágensei a madarak voltak, melyek bizonyos tulajdonságokkal, illetve belső állapottal rendelkeztek. Az ágensok saját koordináta-rendszereiken keresztül szemlélték környezetüket, tehát észlelésük egyed-központú volt.

Mint minden ágens-alapú modellezésnél, itt is egy bizonyos döntési mechanizmust definiálhatunk a madár ágensok lépéseinek meghatározására, mely jelen esetben az alábbi szabály-rendszert jelentette:

- egymással való ütközés elkerülése,
- sebesség (nagyság és irány) illesztése,
- centralizáltság - egymáshoz lehetőség szerint minél közelebb maradni.

A fenti szabályokat fontossági, ún. precedencia sorrendben írtam fel. Ez azt jelenti, hogy a döntés meghozatala során mindhárom kényszer bizonyos súllyal szerepel, majd ezek valamilyen kombinációjából (egyszerű esetben például azok súlyozott átlagából) számítható ki a haladás iránya. A precedencia sorrend segítségével elkerülhető, hogy az adott körülmények között legfontosabb kényszert a többi, adott esetben kevésbé fontos kényszer kioltsa. Ha végiggondoljuk, teljesen logikus az elvárás, hogy egy olyan elmozdulási javaslat, mely azt a célt szolgálja, hogy az ágens ne ütközzön össze társaival fontosabb legyen, ezáltal nagyobb súllyal figyeljünk rá oda, mint például egy olyan javaslat, mely a centralizáltság fenntartását szolgálja. Ez utóbbi is természetesen fontos a raj összetartása miatt, de bizonyos esetekben megengedhető akár a teljes mértékű figyelmen kívül hagyása is.

A modellt tovább bővítették, hogy bizonyos akadályok kikerülésének feladatát is képes legyen megoldani a kolónia, a tereptárgyakat nagy taszítóerőként ábrázolták, mely a madarak haladási irányát módosítani képes.

A modell számítási komplexitása csökkenthető $O(n^2)$ -ről $O(n)$ -re, ha al-rajokra osztjuk a kolóniát, így minden egyednek csak a környezetében lévő, konstans mennyiségű ágens figyelembevételével kell a döntéseket meghoznia. Ez az elképzelés egyébként nem áll távol a természetben is megfigyelhető kolóniák működésétől, nyilvánvalóan egy rajban repülő madár sem képes annak összes tagjának mozgását figyelemmel kísérni – például kitakarhatják egymást az egyedek.

Az ágens-alapú modellek annak igazolására születtek, hogy bizonyos komplex kolónia mintázatok egyszerű modellek eredményeként is megkaphatóak [35, 53, 54]. A modellek valóban jól leírják az egyedek viselkedését, azonban a mi esetünkben az őket körülvevő médium is fontos volt, ennek ábrázolására más módszert kellett választanunk.

Kawasaki modell – reakció-diffúziós modell

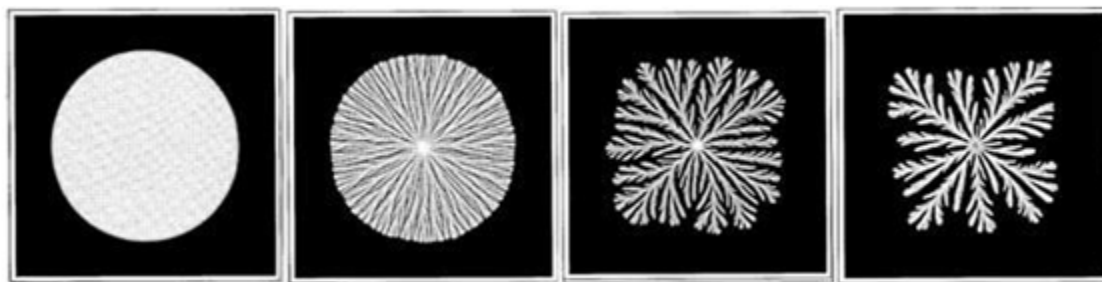
1997-ben K. Kawasaki és munkatársai *B. subtilis* baktériumok növekedésének leírására létrehozott modellt publikáltak [35]. A modellben a környezeti részecskéket, valamint a baktériumokat is reakció-diffúziós egyenletekkel valósították meg. A modell segítségével különböző mintázatok kialakítása volt a cél, mely mintázatok laboratóriumi körülmények között figyeltek meg. A kísérletek során azt tapasztalták, hogy a baktériumok híg – kis koncentrációjú – agarban, valamint kellően sok tápanyag jelenlétében egyenletesen, körszerű elrendezésben haladnak. Sűrűbb táptalajt alkalmazva, vagyis amikor megnehezítették az egyedek mozgását, a mintázat szintén tömör, a rajzás kontúrja viszont nem szabályos kör alakú lett. A tápanyag kezdeti szintjének csökkentésével a baktériumok fraktálszerű mintázatokot alakítottak ki, minél sűrűbb táptalajon vizsgáltak őket, a fraktál annál kevésbé tömör, egyre szerte-ágazóbb lett. A sűrű fraktálos mintázatokot gyakran DBM-nek (= dense branching morphology), a nagyobb koncentráción kialakuló, lazább elrendeződéseket pedig DLA-nak (= diffusion-limited aggregation) nevezik.

A reakció-diffúziós modellt két egyenlet segítségével írták fel, egyik a tápanyagszint (1.1.4 egyenlet), másik pedig a baktérium egyedszám (1.1.5 egyenlet) időbeli változását adja meg.

$$\frac{\partial n}{\partial t} = D_n \cdot \nabla^2 n - f(b, n) \quad (1.1.4)$$

$$\frac{\partial b}{\partial t} = \nabla(D_b \cdot \nabla b) + \theta \cdot f(b, n) \quad (1.1.5)$$

a fenti egyenletekben t az időpillanatot, n a tápanyagszint, b a baktérium egyedszám értéke, D_n a tápanyag-, D_b pedig a baktériumok diffúziós állandója. A tápanyag megváltozása függ annak diffúziójától, valamint a baktériumok tápanyag fogyasztásától ($f(b, n)$). A baktériumszám időbeli megváltozásának leírásakor a diffúziós taghoz hozzáadódik az



1.1.12. ábra: Kawasaki modell eredményei.

újonnan létrejövő baktériumok száma, mely a tápanyag-fogyasztás mértékének konstans szorosa.

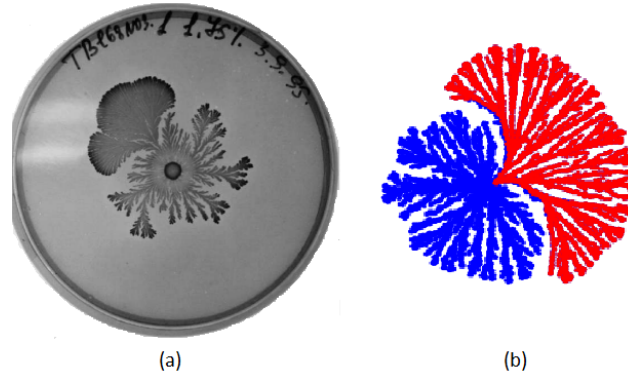
A szimulációk során kezdetben egyenletes eloszlású tápanyaggal dolgoztak, a baktériumok eloszlását egy olyan függvény határozta meg, mely a sík közepén vett fel magas értéket, máshol nullát. A különböző kezdeti paraméterezések (tápanyag szint, illetve agar sűrűség) mellett kapott mintázatokat az 1.1.12 ábra foglalja össze. Az eredmények jól követik a korábban elvégzett laboratóriumi kísérletek során megfigyelt elrendeződéseket, mely bizonyítja a modell alkalmasságát a kolónia növekedés jelenségének leírására. A használt modell azonban az általunk vizsgált jelenséget, vagyis a quorum sensinget nem írja le, illetve nem is alkalmas arra, hogy a baktériumok saját környezetük alapján bizonyos döntések meghozatalára legyenek képesek.

Ben-Jacob modell – hibrid modell

Hibrid modellen mindig két különféle modellezési megoldás ötvözetét értjük, Ben-Jacob esetén ez az ágens-alapú, valamint a reakció-diffúziós megközelítések használatát jelentette. 1999-ben „Communicating Walkers” néven publikált munkájukban baktérium kolóniák növekedését, valamint a kialakuló mutációkat vizsgálták [53]. A modell – a mi elképzelésünkhöz hasonlóan – baktériumok kommunikációjának leírására született. A tápanyag, valamint a kommunikációt segítő molekulák idő- és térbeli terjedésének leírására reakció-diffúziós egyenleteket használtak, a baktériumokat pedig ágensekként reprezentálták a modellben.

Az ágensek metabolizmusa nem csak az időtől, hanem a pozíciótól is függ, hiszen ugyanabban a térben mozognak, ahol a reakció-diffúziós egyenletek megoldásra kerülnek. Az egyedek a táptalajon random irányú, konstans nagyságú elmozdulással haladnak a kolónia határain belül, a kolónia terjeszkedni is képes, ha kellő mennyiségű egyed próbálkozott már a kolónián túli területre lépni. Ez a paraméter a kolónia összetartozását hivatott leírni, a természetben megfigyelhető nyálkaréteg frontvonalának előrehaladásával állíthatjuk párhuzamba az így megfigyelhető jelenséget.

Az ágensek állapotát egy belső energiaszinttel jellemezték, melyet az 1.1.6 egyenlet szerint írtak fel.



1.1.13. ábra: Ben-Jacob modell eredményei; legyező-szerű elrendezés laboratóriumi (a) és szimulációs (b) körülmények között.

$$\frac{dE_i}{dt} = \kappa \cdot C_{consumed} - \frac{E_m}{\tau_R} \quad (1.1.6)$$

vagyis az i . ágens belső energiaszintje (E_i) a tápanyagfogyasztás mértékével nő, valamint az osztódás következtében csökken. $C_{consumed}$ a minimuma az ágens normális tápanyagfogyasztásának, valamint a rendelkezésre álló maximális tápanyagnak, κ a tápanyag energiává való alakításának mértékét adja meg, τ_R a reprodukciós időt, E_m pedig az ez idő alatt bekövetkező energiavesztéséget írja le. Az ily módon változó belső energiaszint, ha elér egy küszöböt, az adott ágens osztódik.

A tápanyag, valamint a jelmolekulák időbeli terjedésének jellemzésére a Kawasaki modell reakció-diffúziós egyenleteihez hasonló egyenleteket használtak.

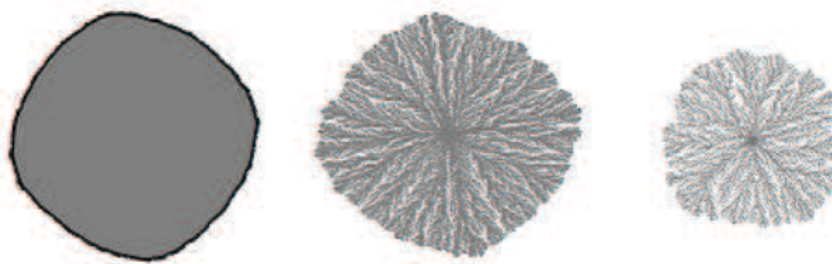
Mutációk, melyek mindig fenotipikus eltérések voltak (pl. nagyobb növekedési ráta) vizsgálatokkor a kezdeti populáció vad típusú egyedekből állt, melyek osztódásakor bizonyos valószínűséggel mutáció következett be. A kísérletekkel sikerült a laboratóriumi megfigyeléshez hasonló eredményeket kapni, mely szerint a mutáns egyedek gyakran elkülönülő kolóniát alkotnak a populáción belül, a kialakuló fraktálszerű mintázatnak csak egy bizonyos területén, legyező-szerűen szaporodnak el és mutatnak másfajta növekedést, mint a vad típusú ágensek (1.1.13) ábra).

A Ben-Jacobék által alkalmazott modell rendszer az általunk elképzelt quorum sensing jelenség leírására alkalmas, ezért a későbbiekben egy ehhez hasonló rendszert építettünk fel.

Gerlee modell – sejtautomaták

Gerlee és munkatársai egy sejtautomata modellt hoztak létre annak igazolására, miszerint olyan komplex jelenségek, mint például a baktériumok növekedési mintázatai a sejtekre értelmezhető, egyszerű kezdeti feltételekkel is megkaphatóak [55].

A használt táptalajt egy $N \cdot N$ -es sejtautomatával valósították meg, a sejtek reprezentálják a baktériumokat, melyek állapota három lehetséges értéket vehet fel: „üres”



1.1.14. ábra: Gerlee modell eredményei.

(nincs baktérium), „aktív” (élő baktérium), vagy „inaktív” (halott baktérium). A sejtek képesek osztódni bizonyos életkort követően (mely küszöbérték egy normális eloszlású valószínűségi változó a populációban), illetve ha a szomszédos sejtek közül valamelyik üres. Ilyenkor az új egyed ebbe a cellába kerül, az osztódó sejt életkora pedig visszaáll a kiindulási értékre. Ha egy cellában a tápanyag koncentráció egy konstans érték alá csökken, a sejt inaktív állapotba kerül, ami tulajdonképpen a sejt halálát jelenti.

A sejtek táplálkozását, illetve a tápanyag terjedését reakció-diffúziós egyenletekkel valósították meg a modellben.

A kapott elrendeződések az 1.1.14 ábrán láthatóak. Megfigyelhető, hogy a fogyasztás nagyságának függvényében más-más mintázatok alakultak ki, melyek a Kawasaki modellnél is megfigyelhető tömör megjelenéstől a sűrűbb, illetve kevésbé sűrű fraktálszerű mintázatokig terjedtek.

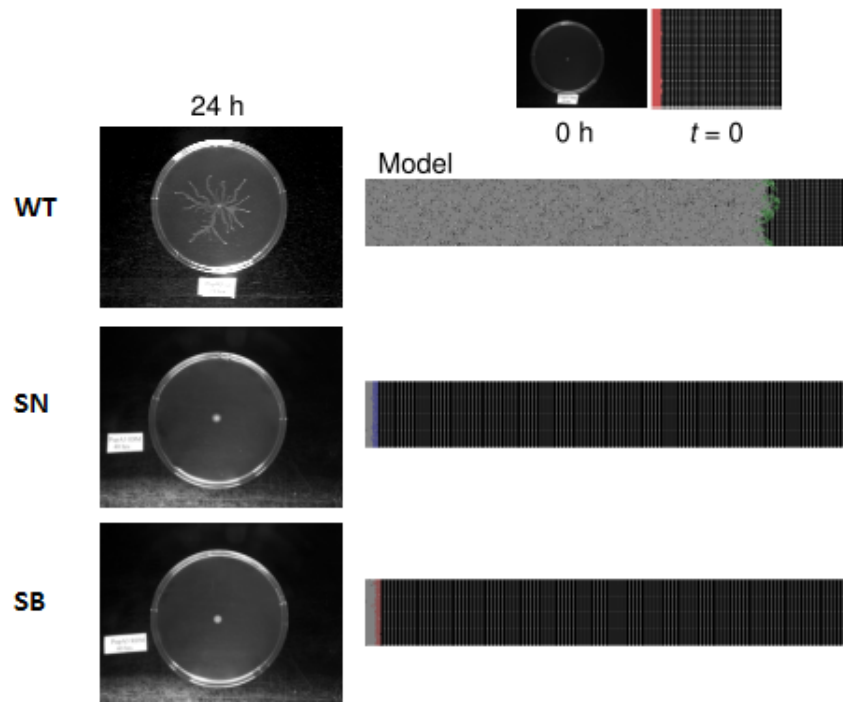
A sejtautomata modell ugyan alkalmas lehet a quorum sensing jelenségének leírására, a későbbiek során nem ezt a megközelítést választottuk.

Netotea modell – hibrid modell

Kutatócsoportunk 2009-ben egy bakteriális kommunikáció modellezésére alkalmas hibrid modellt publikált, melynek megvalósítása Sergiu Netotea nevéhez köthető. A modell elsődlegesen *P. aeruginosa* baktériumok quorum sensing jelenségének leírására született [34]. A modellben a baktériumokat ágensekként ábrázolták, a környezeti anyagok – jel, faktor és tápanyag – terjedését pedig reakció-diffúziós egyenletekkel írták fel. A program Java nyelven íródott, melyet alapul véve hoztunk később létre egy Matlab nyelvű megvalósítást, melyet munkám során felhasználtam. Ez utóbbi részletes bemutatása a 2. fejezetben található.

A modellben a táptalajt egy két dimenziós rácsfelületként képzelhetjük el, amin a kémiai anyagok szabadon diffundálnak, a sejtek pedig random irányban, állandó méretű lépésekkel közlekednek. Az ágensek lépésről lépésre halmozják fel belső energiájukat, melynek bizonyos küszöbértéke felett osztódni képesek.

A modell ágensei a jel és faktor molekulák küszöb feletti szintjére tudnak válaszolni oly módon, hogy belső állapotuk megváltozik, aktív, majd rajzási állapotba kerülnek. Az állapotváltozás a sejtek metabolizmusának növekedésével, valamint jel- és faktor terme-



1.1.15. ábra: Laboratóriumi kísérletek (bal oldal) és a Netotea modell eredményeinek (jobb oldal) összehasonlítása.

lésének fokozódásával jár. A modell segítségével a WT, SN és SB egyedek viselkedését vizsgálták külön-külön futtatva a táptalajon. Az eredmények jól tükrözték a laboratóriumi kísérletek során is megfigyelhető jelenségeket, vagyis, hogy a három fajt, ha egyesével helyezzük a táptalajra, csak a WT képes rajzó populációt kialakítani, az SN és SB mutánsok gyakorlatilag csak a kezdeti populáció méretét tudják fenntartani. Az eredmények az 1.1.15. ábrán figyelhetőek meg.

Összegzés

Modellünk tehát a Netotea és munkatársai által megalkotott modellen alapul [34]. A modell a baktériumokat ágensekként, az őket körülvevő teret egy két dimenziós térként ábrázolja, a környezeti anyagok, vagyis a médium – mely esetünkben magában foglalja a jelet, faktort, valamint a tápanyagot – leírását reakció-diffúziós egyenletekkel valósítottuk meg, az egyedek belső állapotait pedig a bevezetett állapotok – alap-, aktív és rajzási állapot – segítségével szinkronizáltuk egymással.

A fent leírt alkotóelemek csoportosítása közül talán leglényegesebb a baktériumok, valamint a médium ábrázolására választott módszer. Vannak modellek, melyek a két rész leírására ugyanazt a módszert, pl. csak reakció-diffúziós egyenleteket, vagy csak ágens-alapú módszert alkalmaznak, illetve vannak olyan megoldások, az úgynevezett hibrid modellek, ahol, mint a mi esetünkben is a különböző részek leírása egymástól elkülönül, teljesen más módszeren alapszik.

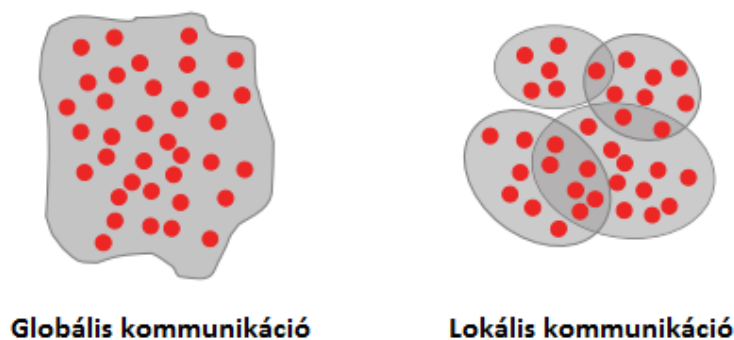
1.2. Lokalitas és globalitás elve

Sok egysejtű élőlény, többek között a baktériumok esetén is megfigyelhetjük, hogy többféle faj előszeretettel tömörül kolóniába, ily módon a különböző fajok egyedei közösen, szimbiózisban élve sokkal előnyösebben tudják a környezeti nyersanyagokat kiaknázni, vagy adott esetben hatékonyabban tudnak egy gazdaszervezet ellen fellépni. A baktériumok körében olykor több száz faj is képes együtt élni, melyek mind különböző molekulák segítségével kommunikálnak. A saját maga által termelthez hasonló kémiai szerkezetű molekulákat képesek valamekkora százalékból érzékelni az egyedek, ezáltal egy meglehetősen komplex kommunikációs hálózatot létrehozva a populáción belül. Ez a viselkedés mindenféleképpen az alapja az együttélésnek [60], ám arra semmiféle kísérletileg alátámasztott magyarázat nincsen, hogy az így kialakuló kolóniák hogyan képesek stabilak maradni a környezeti hatásokkal, vagy éppen a csalogó mutánsokkal szemben [1]. Korábbi elméletek szerint ez különböző egyed-szintű védekező mechanizmusoknak köszönhető [61, 62]. A munkánk során kialakított szimulációs modellel többek között annak igazolása volt a célunk, hogy ezen stabilitási jelenség hátterében is a sejtek közötti kommunikáció rejlik.

A baktériumok kommunikációs mechanizmusának, a quorum sensingnek az alapja, hogy a kommunikáció során használt jel- és faktor molekulák szabadon tudnak diffundálni a baktériumokat körülvevő közegben, ezáltal koncentrációjuk lokálisan más és más értéket vesz fel a tér különböző területein, a lokálisan megtalálható egyedszám függvényében. Éppen ez teszi lehetővé, hogy a kolóniában megjelenő, nem kooperáló (SB) mutánsok, vagy adott esetben nem kooperáló egyéb fajok csak lokális összeomlást legyenek képesek eredményezni. Ez egyben azt is megakadályozza, hogy a teljes kolóniában el tudjanak terjedni ezek az egyedek, ezzel stabilá téve a közösséget a mutációkkal szemben. Mindemellett a kellően hatékony, kooperáló egyedek adott esetben kisebb mikrokolóniát alakíthatnak ki, mely közösségek gyorsabban képesek szaporodni, mint a kolónia többi része. Ez a két jelenség kimutatható bakteriális kolóniák esetén [63], továbbá ennek segítségével magyarázatot adhatunk a teljes, lokálisan kialakuló kapcsolatokon alapuló populáció stabilitása.

Az így értelmezett kolóniát kis, egymással átfedő közösségek összességéként képzelhetjük el, ahol egy-egy kis közösségen belül lokálisan kommunikálnak az egyedek, és elsősorban ezek a lokálisan fellépő kapcsolatok határozzák meg a teljes kolónia viselkedését. Ezeknek az al-struktúráknak a sugara szabja meg, mennyire lokális, illetve globális az adott kommunikáció: a közvetlen kapcsolatot igénylő kommunikáció sokkal lokálisabb, mint például egy diffúzibilis anyagokon alapuló [64]. Mindemellett beszélhetünk a populáción belül globálisan fellépő tulajdonságokról, jelenségekről is.

A kommunikációnak a fent leírt formája tehát nagy, nyílt környezetben tud előfordulni. Kisebb terekben, mint például a laboratóriumi, rázott kultúrákban a bakteriális kölcsönhatásokat globálisként, a kolónia egészére kiterjedőként értelmezhetjük, ezáltal



1.2.1. ábra: Globális és lokális kommunikáció közötti különbségek.

sokkal kiszolgáltatottabbá téve a kolóniát a csaló mutánsokkal szemben, melyek ilyen körülmények között sokkal jobb eséllyel tudnak elszaporodni, hiszen nincs lehetőség lokális elszigetelésre [36, 65].

A lokális és globális kommunikáció közötti különbséget a 1.2.1 ábra mutatja be.

Az így kapott lokalitás-globalitás elve nem használ ki semmiféle baktérium-specifikus megfontolást, így azzal analógiában más olyan struktúrák, rendszerek jellemzése is elképzelhető, melyek hasonló elveken, vagyis lokális kapcsolatokon alapulva működnek. Erre egy szintén biológiai példa lehet a modulárisan felépülő fehérjehálózatok kapcsolatainak leírása.

1.3. A disszertáció felépítése

A 2. fejezetben a csoportunk által, a baktérium közösségek leírására létrehozott modellrendszert mutatom be. A 3. fejezetben az általam kialakított módszertani fejlesztéseket sorolom fel, melyek egyrészt a modell bizonyos továbbfejlesztéseit, másrészt a szimulációk során kapott eredmények kiértékelését elősegítő módszereket tartalmazzák. A 1.2. fejezet a bakteriális kommunikáció lokalitásának, illetve globalitásának elvét fogalmazza meg. Az 4. fejezetben a nyílt és zárt terekben végzett szimulációs eredményeket mutatom be. A 5. fejezet több baktérium faj esetén a kommunikációs anyagok egymással történő megosztásának témáját járja körül, elsősorban az aszimmetrikus áthallásra koncentrálva. Ezt követően a 6. fejezetben az egyedek térért való versengésének fizikai potenciálfüggvényekkel történő leírását, annak eredményeit foglalom össze, végül a 7. fejezetben a nem QS mutációk témáját mutatom be.

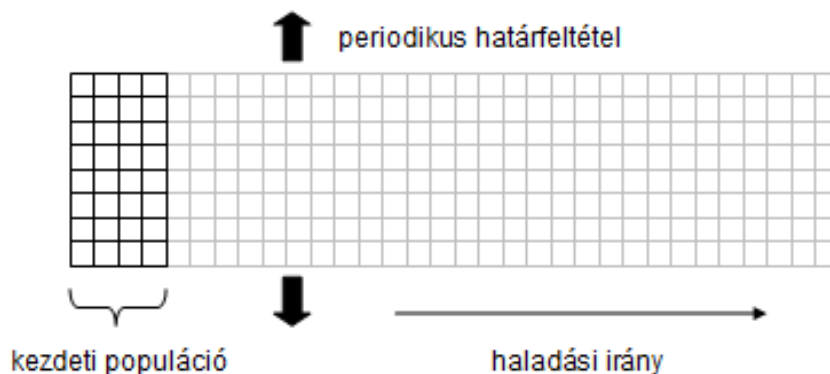
2. fejezet

Több fajból álló baktérium közösségek ágens alapú modellezése

Munkám megkezdése előtt csoportunk kidogozott egy ágens alapú módszert baktériumok quorum sensingen alapuló együttműködésének modellezésére [34], mely részletes ismertetése az 1.1.2 fejezetben található. Ezt a rendszert – mely eredetileg Java nyelven íródott – Matlab környezetben implementáltuk, majd továbbfejlesztettük, hogy több faj versengését és együttműködését is képen legyen szimulálni. Az egyedek közötti kommunikáció leírásának alapja, hogy az egyedek egymás jelenlétét a termelt jelmolekulák koncentrációs szintje alapján érzékelik, ha az meghalad egy bizonyos küszöbértéket, arra az egyedek belső állapotuk megváltoztatásával tudnak reagálni. A modell esetén – a biológiai definíciótól eltérően – egy faj alatt mindig azon egyedek összességét értjük, melyek ugyanazzal a paraméterezéssel rendelkeznek. Ilyen formán tehát a vad típusú egyedeket, valamint azok deléciós mutációval képzett változatait – az SN és SB egyedeket – külön fajnak tekinthetjük.

2.1. A modell működése

A modell alapötlete – számos, az irodalomban fellelhető modellel ellentétben – hogy a rajzási állapotban kísérletileg megkapható, fraktál-szerű elrendezések helyett, annak csak egy kis részét, egy adott ágát mutatjuk be. Ennek megfelelően az ágensek egy két-dimenziós, hosszúka téglalap alakú térben mozognak, melynek egyik végéből indulnak, és felfelé haladnak (2.1.1 ábra). Mozgásuk az idő folyamán véletlenszerű, a kolónia felfelé irányuló terjeszkedése, térbeli előrehaladása egyedül a tápanyagnak köszönhető, hiszen amint az egyedek elfogyasztják ezeket az anyagokat a saját környezetükből, a túlélés érdekében kénytelenek újabb tápanyagban gazdag terület felé mozogni. Oldalirányban periodikus határfeltételt valósítottunk meg, felfelé pedig végtelen hosszúnak tételezzük



2.1.1. ábra: Táptalaj kinézete.

fel a teret, ezzel biztosítva, hogy az egyedek mindig találhassanak még kiaknázatlan tápanyagforrást maguknak. A táptalajnak egyedül az a vége van fix határfeltétellel lezárva, ahonnan kezdetben indítjuk a baktérium ágenseket.

A talajt cellastruktúrával írjuk le, mely mind a baktérium ágensek, mind pedig a kémiai anyagok esetén meghatározó. Adott cellán belül a környezeti anyagok koncentrációja állandó, a diffúzió a cellák között van értelmezve. A baktérium ágensek a két dimenziós térben mozognak, mely során minden lépésben az őket körülvevő környezetet (jel-, faktor- és tápanyagszintet) az éppen aktuális cellájuk határozza meg. Annak érdekében, hogy az ágensek ne tömörülhessenek nagyon kis térrészre, minden egyes cellában maximalizálva van a megengedett egyedszám. Egy cella a kolóniához tartozik, ha léptek már bele egyedek. Amíg kolónián kívüli egy cella, nem léphet oda senki, kolóniához minden lépésben hozzávesszük azokat a cellákat, melyekbe már kellő mennyiségű (konstans) egyed próbált meg belépni. Ennek a paraméternek – a Ben-Jacob modell esetén, az 1.1.2 fejezetben ismertetett értékhez hasonlóan – a kolónia összetartozásának modellezésében van szerepe.

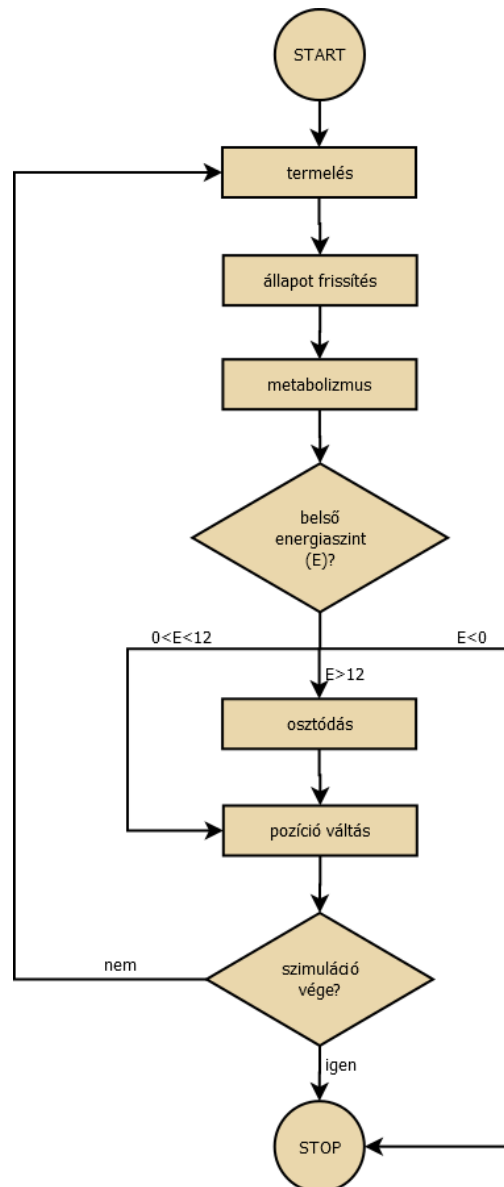
A modell két részből tevődik össze, a baktériumok leírására ágens-alapú modellezést, míg a környezetükben lévő kémiai anyagok ábrázolására reakció-diffúziós egyenleteket használunk. Az ilyen modelleket szokták hibrid modelleknek is nevezni.

A program futása során használt főbb paraméterek, valamint azok egy-egy tipikus értéke az A. függelékben található.

2.1.1. A modell ágensei

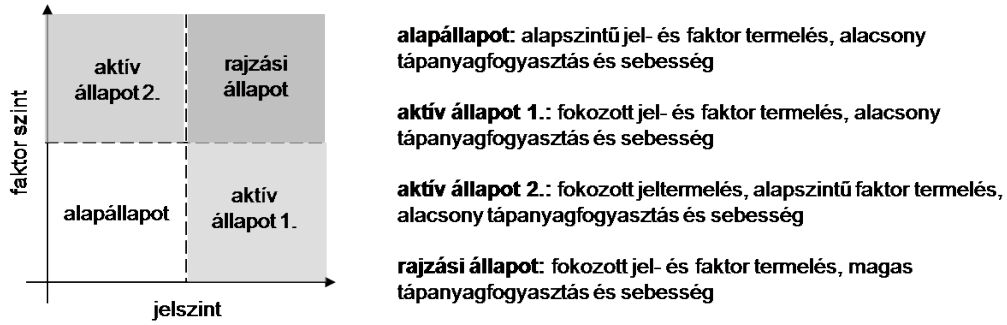
A felépített modellben ágensek írják le a baktériumok viselkedését.

A program futása ciklusokra van osztva, mely során – a diffúzió mellett – az ágensek életciklusát figyelhetjük meg, melynek folyamatábrája a 2.1.2 ábrán látható. Minden körben először az egyedek állapotuknak (és fajuknak) megfelelő mennyiségű jelet és faktort termelnek környezetükbe. Az itt használt állapotuk még az egyel korábbi körben meghatározott érték, az újonnan termelt anyagoknak megfelelő állapotok ezt követően

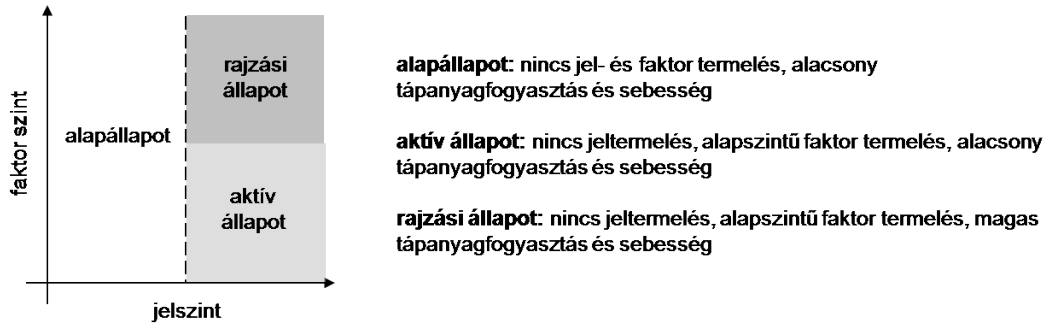


2.1.2. ábra: Baktérium ágensek folyamatábrája nyílt modell esetén; az ágensek születésük után minden ciklusban sorban az alábbi lépéseket hajtják végre, míg meg nem halnak: jelet és faktort termelnek, állapotot váltanak, tápanyagot fogyasztanak, valamint a létfenntartáshoz szükséges energiával csökken energiaszintjük, osztódnak (ha egy bizonyos küszöb fölött van energiájuk) és pozíciót váltanak.

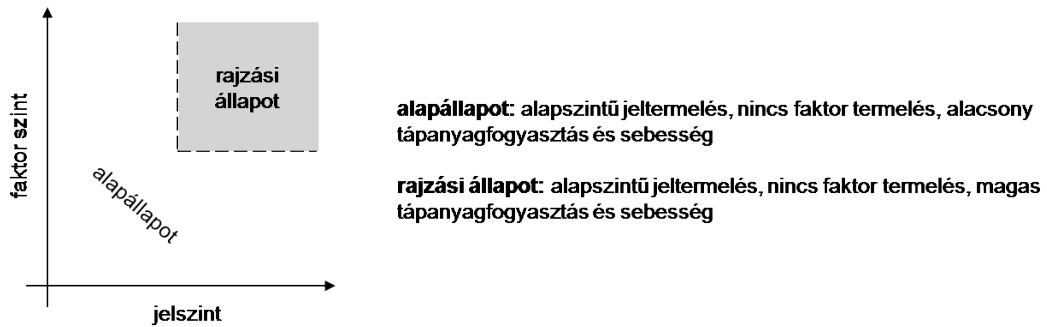
kerülnek kiszámításra, vagyis következő lépésként az egyedek állapota frissül. Amennyiben a baktérium aktuális cellájában van tápanyag, ezt követően tápanyagot vesz fel. A felvett tápanyag mennyiségét szintén az adott egyed állapota és faja határozza meg, továbbá befolyásolni tudja az adott cellában rendelkezésre álló tápanyag mennyisége – értelemszerűen ennél többet semmiképp sem lehet az egyed. Itt fontos szempont lehet a kiértékelési sorrend, hiszen könnyen előfordulhat, hogy egy adott cellában a tápanyag valamelyik kör közepén fogy el, tehát bizonyos egyedeknek még van lehetősége fogyasztani belőle, bizonyosoknak viszont már nincsen. Ezért a kiértékelési sorrendet minden



(a) WT egyedek állapotdiagramja



(b) SN egyedek állapotdiagramja



(c) SB egyedek állapotdiagramja

2.1.3. ábra: Állapotdiagramok WT (a), SN (b) és SB (c) egyedek esetén.

körben randomizáljuk, így biztosítva a hasonló esélyt az egyedeknek. A felvett tápanyag tulajdonképpen az egyedek belső energiaszintjét növeli, melyet egyrészt elraktároznak az egyedek, másrészt a metabolizmusra fordítják. Ha a tápanyagfogyasztást követően egy ágens energiaszintje nem elegendő a létfenntartáshoz, elpusztul, egyébként az ahhoz szükséges energiaszinttel csökken belső energiája. Következő lépésként osztódhatnak az egyedek abban az esetben, ha ehhez kellő mennyiségű energiával rendelkeznek, illetve ha az éppen aktuális cellájukban még kevesebb baktérium ágens tartózkodik, mint a megengedett maximális. Az osztódó sejt energiája az osztódáshoz szükséges energiával csökken. Az újonnan született sejtek mindig alapállapotúak, függetlenül szülő sejtjük állapotától, fajukat, és térbeli elhelyezkedésüket a szülősejttől öröklük. Utolsó lépésként minden ciklus végén véletlenszerű mozgást hajtanak végre az egyedek.

Ezek a lépések ismétlődnek egymás után egészen addig, míg (több faj együttes szimulációja esetén) már csak az egyik faj marad életben, vagy el nem érünk a program hívásakor meghatározott maximális lépésszámgig.

A baktérium ágensek tehát az aktuális cellájuk jel- és faktor szintjét érzékelik, és ennek hatására az egyes állapotok között képesek váltani. Mindkét anyag esetén egy meghatározott küszöbérték felett kerülnek aktív-, illetve rajzási állapotba az egyedek. A három, korábban definiált faj esetén (WT, SN és SB) a 2.1.3 ábra foglalja össze, hogy az egyes küszöbértékek átlépésének hatására milyen állapotváltozások következnek be. Az állapotváltás hatással van az ágensek jel- és faktor termelésének mértékére, valamint az egyedek sebességére és tápanyagfelvételére.

A jel és faktor küszöbök értékének megváltoztatásával, valamint az egyes állapotok alatt megfigyelhető belső állapotváltozások definiálásával egyéb fajok leírása válik lehetővé, melyekre a 7. fejezet mutat néhány további példát.

2.1.2. Reakció-diffúziós egyenletek a modellben

A megvalósított modellben tehát az ágensek életciklusa mellett minden lépésben megvalósul a fent említett jel- és faktor molekulák, valamint a tápanyag diffúziójának szimulációja. A fent említett kémiai anyagok időbeli terjedését reakció-diffúziós egyenletek írják le. Ezen egyenletek megvalósítása prof. Mircea Munteanu (University of Udine, Olaszország) nevéhez fűződik. Ezeknek a kémiai anyagoknak a termelésére (jel és faktor esetén) és fogyasztására felírt egyenletek közötti fő eltérés a reakciós tagban van, mely a termelőző molekulák esetén egy pozitív előjelű, míg az időben csökkenő mennyiségű tápanyag esetén egy negatív előjelű tag.

Differenciálegyenletek numerikus megoldására létrejött módszereket két csoportba sorolhatjuk, beszélhetünk az implicit, és az explicit módszerekről [56]. Explicit módszerek esetén az $n + 1$. állapotot mindig az n . állapot segítségével becsülhetjük egy olyan egyenlettel felírva, mely explicit módon megadja a kívánt eredményt. Ezzel ellentétben az implicit módszerek esetén egy implicit egyenlet megoldásával tudjuk felírni az adott (n .) és a következő ($n + 1$.) időállapot közötti összefüggést. Ily módon az implicit módszerek minden időpillanatban egy lineáris egyenletrendszer megoldásával járnak, éppen ezért megoldásuk jóval lassabb, ám általában minden esetben stabil megoldást adnak. Ezzel ellentétben az explicit módszerek ugyan gyorsabbak, ám csak bizonyos megkötések mellett adnak stabil megoldást.

Esetünkben a szimulációk futási ideje meghatározó szempont volt, mindenképpen gyors megoldást kellett választanunk. Éppen ezért a differenciálegyenletek megoldását explicit Euler módszerrel valósítottuk meg [56]. Az Euler módszer a közönséges differenciálegyenletek megoldására használható legegyszerűbb módszer, mely lényege, hogy minden lépésben a megelőző lépés során számított értékből a kiszámított derivált irányába mozgunk bizonyos h lépéssel. A megoldás a 2.1.1 egyenlettel írható fel.

$$y_{n+1} = y_n + h \cdot f(x_n, y_n) \quad n = 0, 1, \dots, N-1 \quad (2.1.1)$$

ahol y jelöli a keresett megoldást, h a lépésközt, f pedig a derivált függvényt, mely irányába mozgunk.

Az Euler módszernek számos továbbfejlesztett változata van, melyek pontosabb megoldást adnak. Ennél a legegyszerűbb változatnál a lépésköz megválasztása nagyon fontos, nagymértékben tudja befolyásolni a kapott eredmény pontosságát. Esetünkben a kellően jól megválasztott h érték mellett sikerült olyan eredményeket kapnunk, melyek megoldásának pontossága nem tért el lényegesen a bonyolultabb változatokkal kapottaktól, ám a számítási igény jelentősen kisebb maradt (pl. az Euler módszer továbbfejlesztésével kapható Runge-Kutta módszerhez képest egy nagyságrenddel).

A baktérium modellek csoportosítására bemutatott osztályozási módszer alapján tehát a saját modellünket az alábbi osztályokba sorolhatjuk. A baktériumok ábrázolása ágens-alapú modellezéssel történik, az őket körülvevő teret két dimenzióban, hosszanti irányban nyíltnak feltételezzük, oldalirányban periodikus határfeltételt értelmezzünk. (Emellett létezik egy zárt megvalósítás is, melyről az 4.2 fejezetben olvashatunk részletesen.) A médium leírására reakció-diffúziós egyenleteket használunk, a baktériumok viselkedését pedig belső állapotaik koordinálásával valósítjuk meg.

Amikor nagy teljesítmény elérésére volt szükségünk, a szimulációkat a trieszti ICGEB-ben (International Centre of Genetic Engineering and Biotechnology) található számítógép klaszteren futtattuk le. A Linux klaszter egy frontend kiszolgálóból és 20 db backend gépből áll, melyek mindegyike 2.2 GHz-es processzorokkal és 2 GB memóriával rendelkezik. Ennek köszönhetően a klaszteren párhuzamosan 20 db szimuláció futtatására volt lehetőségünk, így jelentősen fel tudtuk gyorsítani az olykor néhány ezres nagyságrendű szimuláció-sereg lefutását.

3. fejezet

Módszertani fejlesztések

Munkám során újszerű szimulációs elveket kellett alkalmaznom, amelyekhez a meglévő ágens-alapú modellt módosítani kellett, és alkalmassá kellett tenni nagyszámú szimulációs kísérlet parallel kivitelezésére, és az eredmények egyszerű bemutatására.

3.1. Több kémiai anyag használata a modellben

Csoportunk eredeti modell rendszere homogén baktérium kolóniák növekedését szimulálta, melyben a baktérium ágensek egyetlen kémiai jellel kommunikáltak, és egy másikfajta kémiai anyaggal, a faktorral kooperáltak. Több faj versengésének vizsgálata esetén meglehetősen speciális eset, amikor a két (vagy több) faj ugyanazokat a kémiai anyagokat termeli, valamint ugyanazt a tápanyagot fogyasztja. Éppen ezért a szimulációs rendszert oly módon fejlesztettük tovább, hogy az több jelet, több faktort és több tápanyagot is képes legyen kezelni.

Az így kialakított szimulációs környezetben egyrészt lehetőségünk nyílt a külön jelet és faktort termelő egyedek vizsgálatára, valamint arra is lehetőséget adtunk a rendszerben, hogy ezek a fajok ne csak a saját maguk, hanem a másik faj által termelt jelet és faktort is érzékelni tudják bizonyos mértékben. Ezáltal lehetővé vált az „egymás nyelvét értő” baktériumfajok együttélésének modellezése, vagyis megvalósítottuk a fajok közötti kommunikáció modelljét is.

Az eredeti rendszerben továbbá a fajok mindig egyetlen, közös tápanyagot fogyasztottak. Az új megközelítéssel azt is megengedtük, hogy az egyedek ne csak a saját fajuk által preferált, hanem a többi, a környezetben szintén megtalálható tápanyagot is képesek legyenek - ismét bizonyos mértékben - elfogyasztani. Ezt praktikusán úgy valósítottuk meg, hogy minden faj rendelkezik egy saját tápanyaggal, melyet képes fogyasztani, emellett pedig a többiek tápanyagát is bizonyos százalékban meg tudja emészteni.

Ennek értelmében az egyedek jel- és faktor érzékelése, valamint tápanyagfelvétele a korábbiakhoz képest megváltozott, hiszen ezeket a lépéseket befolyásolja az egyedek közötti áthallás.

3.2. Numerikus és vizualizációs eszközök nagy mennyiségű adat kezelésére

A több-jelű kísérleti rendszerek teljes paraméterterének kiértékeléséhez nagyon nagy-számú szimulációt kellett elvégezni. Annak érdekében, hogy az így kapott eredményeket fel tudjam dolgozni, egyrészt numerikus módszereket vezettem be a populációk térbeli szétválásának, illetve időbeli stabilitásának jellemzésére, másrészt egy ábrázolási megoldást dolgoztam ki, mely során többdimenziós hőtérképeket alkalmaztam.

3.2.1. A fitnessz és a relatív fitnessz fogalmának bevezetése

Két faj versengésének vizsgálatakor gyakran hasznos a fitnessz, valamint a relatív fitnessz számítás bevezetése [57, 58]. Ennek segítségével numerikusan jellemezhetjük, hogy egy adott faj hogyan teljesít egy előre definiált referencia populációéhoz képest, így kiderül, mennyire szerepelt jól az adott faj a populáción belül.

Esetünkben a referencia populáció egy csak vad típusú egyedekből álló populációt jelent, a relatív fitnessz számításakor tehát mindig ehhez a populációhoz mérjük, hogy milyen mértékben sikerült az adott fajnak elszaporodnia.

Egy adott faj esetén a 3.2.1 egyenletben leírt módon számolhatjuk ki a fitnessz értéket a végpopuláció és a kezdeti populáció arányából [57, 58].

$$F = \frac{1}{\Delta t} \log_2 \frac{N_{end}}{N_{start}} \quad (3.2.1)$$

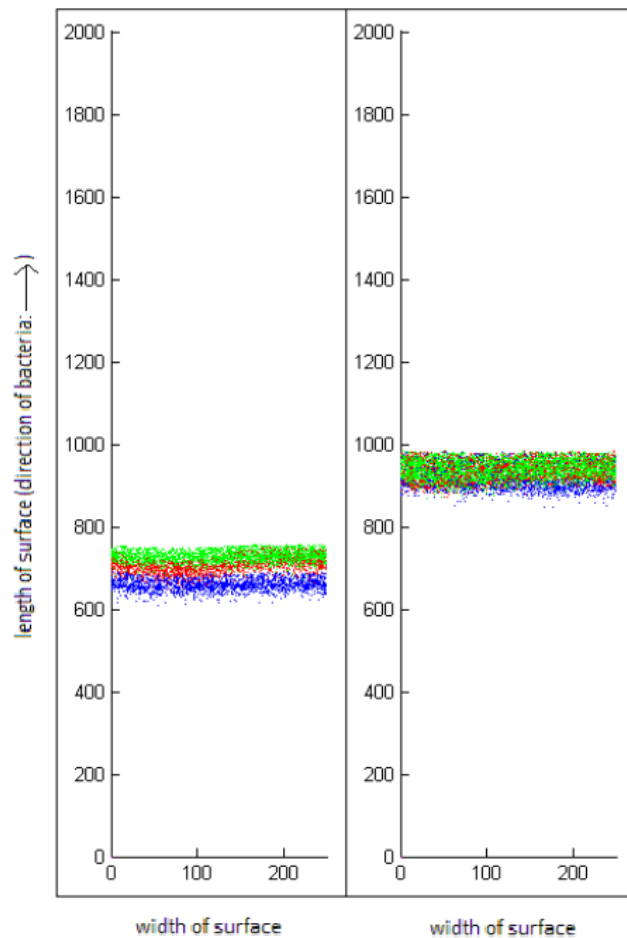
ahol F a fitnessz érték, Δt jelöli az eltelt időt, N_{end} és N_{start} pedig a végső, valamint a kezdeti populáció egyedszámát. A logaritmus számítása miatt a kapott érték könnyen láthatóvá teszi, hogy növekvő, vagy csökkenő populációról beszélünk-e, hiszen növekedés esetén a logaritmus értéke pozitív, míg az egyedszám csökkenésekor negatív lesz.

Gyakran egy faj viselkedését nem önmagában, hanem egy referencia populáció viselkedésével összevetve szeretnénk vizsgálni. Ez esetben a relatív fitnessz kiszámítására van szükségünk, mely során a vizsgált és a referencia populáció fitnesszét osztjuk el egymással (3.2.2 egyenlet), így az idő, mint tényező kiesik az egyenletből, egy dimenzió nélküli értéket eredményezve.

$$F_{rel} = \frac{\log_2(N_{end}/N_{start})}{\log_2(N_{end,wt}/N_{start,wt})} \quad (3.2.2)$$

ahol F_{rel} a relatív fitnessz értéke, $N_{end,wt}$ és $N_{start,wt}$ pedig rendre a végső, valamint a kezdeti populáció egyedszámát jelölik a referencia, vad típusú egyedekből álló populáció esetén.

Relatív fitnessz esetén nyilvánvalóan 1-et, illetve 1 körüli értéket kapunk, ha a referencia populációnkéhoz hasonló eredményt értek el az egyedek, 1 alatti értéket, ha rosszabbul, míg 1 fölötti értéket, ha jobban teljesítettek annál. Míg a fitnessz értéket



3.2.1. ábra: Szegregált (bal oldal) és kevert (jobb oldal) populációk futás közben a táptalajon.

mindig bizonyos Δt időintervallumra számoljuk, a relatív fitness esetén legtöbbször az idő, amit vizsgálunk, a teljes rendelkezésre álló idő, vagyis általában a kezdeti populáció az indítási-, míg a végpopuláció a szimuláció végekor megfigyelhető populációs méretet jelenti.

3.2.2. A térbeli szegregáció bevezetése

Ahogy a korábbi fejezetek során is láthattuk, több fajból álló baktérium kolóniák rajzása során többféle mintázatot figyelhetünk meg. Ezek között kétféle, alapvetően elkülönülő típust különböztethetünk meg, egyik esetén a kolónia résztvevő fajai egymástól elválnak, egymást követve haladnak a táptalajon (3.2.1 ábra bal oldal). Ezt nevezzük szegregált populációnak. A másik esetben a fajok egymással keveredve helyezkednek el a táptalajon (3.2.1 ábra jobb oldal) – kevert populáció.

Baktérium fajok egymással való kommunikációjának vizsgálatakor kerül előtérbe a szegregáltság mérése, mely segítségével kizárhatjuk azokat az eseteket, melyeknél semmiképp sem alakulhat ki a fajok közötti jel- illetve faktor csere. Természetesen ezek a

szegregált populációk, hiszen azok egyedei fajonként ugyan kommunikálhatnak, de fajok közötti együttműködésről nem igazán beszélhetünk, legfeljebb a vezető helyért mehet versengés, hiszen ha ugyanazt a tápanyagot fogyasztja a két faj, nyilvánvalóan az elől haladó populáció előnybe juthat, ha elfogyasztja a többi faj elől a tápanyagot, mire ők az adott területre érnének. Külön táptalajon futtatva a fajokat, ez a versengés is kiküszöbölhető.

Kevert populáció esetén érdemes csak vizsgálni, hogy az egymással együtt élő fajok vajon kooperatív, együttműködő társadalmat hoztak-e létre, mely együttműködés előnyös mindkét populáció számára, vagy egymással versengve egyik faj képes elszaporodni a másik fajon, csak a győztes faj számára előnyös együttélést megvalósítva. A versengés akár fel is emészti mindkét populációt, mely során egy lényegesen kisebb, ám mégis stabil egyensúlyi populáció alakulhat ki minden faj esetén, mint amit kedvezőbb körülmények esetén figyelhetnénk meg. Ez utóbbi esetben tehát minden fajnak csak hátránya származik az együttélésből.

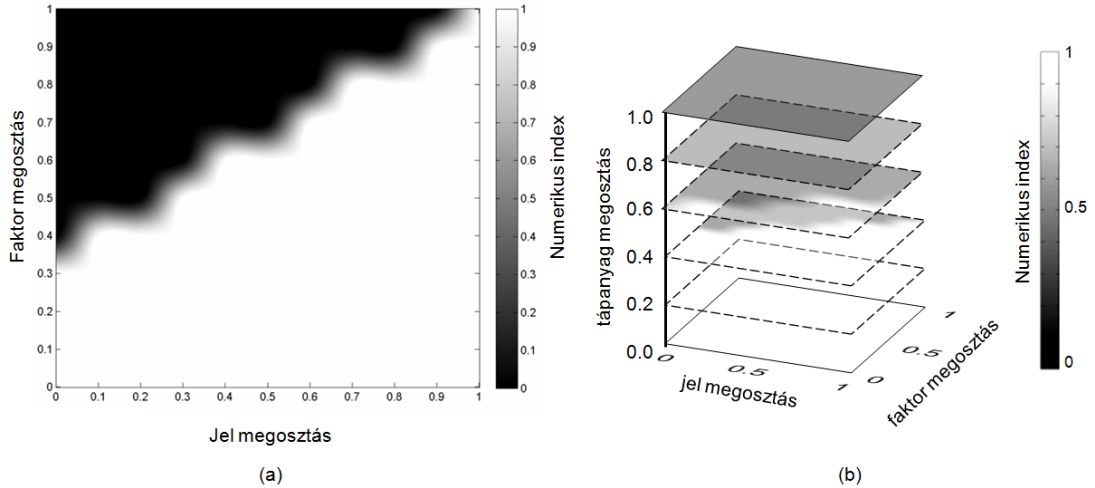
Ezen tulajdonság mérésére, vagyis annak eldöntésére, mennyire keverednek össze a fajok egy adott populáción belül az úgynevezett szegregációs indexet vezettem be [57, 59]. A számítás során kihasználtam a program cellastruktúráját. Adott i . sorra definiálhatjuk pl. két faj esetén az $n_1(i)$, $n_2(i)$ értéket, mely megadja, hogy a sorban az első, illetve a második fajból hány egyed található. Ezek összegét nevezzük $N(i)$ -nek, az i . sorban található egyedek számának. A két érték hányadosa (pl. $n_1(i)/N(i)$) rendre megadja az adott sorban az egyes fajok arányát. Szegregált esetben ezek egyike közel 1, míg a másik közel 0 értéket fog adni, kevert esetben pedig mindkét érték $1/2$ köré fog esni.

A szegregációs index számításához ezen soronkénti maximális egyedszám értékeket átlagoljuk. Esetünkben ehhez nem kell minden egyes, a fentiekben leírt hányadost kiszámolni, ekvivalens megoldást kapunk, ha a soronként kiszámolt legnagyobb fajhoz tartozó egyedszám értékek - szegregációs számok - összegét leosztjuk az összes egyed számával (3.2.3 egyenlet).

$$S = \frac{S_{sumPerRow}}{N_{allBacteria}} \quad (3.2.3)$$

ahol S a szegregációs index egy adott lépésben, $S_{sumPerRow}$ a soronkénti szegregációs számok összege, $N_{allBacteria}$ pedig az összes egyed száma. Két fajból álló populáció esetén az így kapott érték az $[1/2, 1]$ intervallumba esik (általánosan, ha a fajok számát N_S -sel jelöljük, $[1/N_S, 1]$ intervallumról beszélhetünk). A későbbi összehasonlítások egyszerűbbé tételéhez normalizáltam a kapott értéket, így abból egyértelműen eldönthető, hogy szegregált, vagy kevert populációról beszélünk-e, függetlenül attól, hányféle faj vett részt a szimuláció során. Így kevert populáció esetén 0, míg szegregált populáció esetén 1 körüli értékeket kapunk. Ez a normalizált szegregációs index figyelhető meg a 3.2.4 egyenletben:

$$S_N = \frac{S - 1/N_{species}}{1 - 1/N_{species}} \quad (3.2.4)$$



3.2.2. ábra: Az ábra (a) részén egy példa látható egy tetszőleges numerikus index hő térképes megjelenítésre; a (b) részen pedig egy több hő térképből készített, három dimenzióban megjelenített ábra látható, mely a jelben-, faktorban-, valamint tápanyagban való áthallást is figyelembe veszi.

ahol S_N a normalizált szegregációs index, S az előző egyenletben szereplő szegregációs index, valamint $N_{species}$ jelöli a szimulációban részt vevő összes faj egyedszámát.

3.2.3. Eredmények ábrázolása hő térképek felhasználásával

A jel-, faktor- és tápanyagbeli áthallás vizsgálatokkor paramétereztem az áthallás mértékét: a teljes áthallást 1-nek, a semekkora áthallást pedig 0-nak definiáltam. Ezt követően az így kapott $[0, 1]$ intervallumot 0, 1-es lépésközökre osztottam, ezáltal mindhárom paraméter esetén összesen 11 lehetséges értéket engedhetünk meg – mindkét faj esetén. Az így létrejövő nagy mennyiségű adat megjelenítésére az alábbi módszert dolgoztam ki.

Először különböző numerikus értékeket – szegregációs index és relatív fitnessz – számoltam ki, melyek segítségével a kialakuló populációs mintázatok osztályozhatóak. A kapott értékeket hő térképen jelenítettem meg, oly módon, hogy egy adott térkép rögzített tápanyagban való áthallás esetén mutatta a jel- (x tengely) és faktor (y tengely) megosztásának hatásait. A 3.2.2 ábra (a) részén erre látható példa egy tetszőleges numerikus érték esetén.

Ezt követően a paramétertér egyes részein a különböző numerikus értékek eredményeit kiértékelve meghatároztam a kialakuló mintázatokat, majd az így kapott, különböző tápanyagban való áthallások esetén megfigyelhető hő térképeket a z tengely mentén egymás fölé helyezve egy olyan megjelenítési módot alkottam, mely segítségével egyszerűen értelmezhetőek a nagy mennyiségű szimulációból származó eredmények. Erre a három dimenzióban történő ábrázolásra egy példa a 3.2.2 ábra (b) részén figyelhető meg.

3.3. A baktériumok versengésének leírása fizikai potenciálfüggvények segítségével

Eredeti modellrendszerünkben az ágensek véletlenszerűen mozogtak, szaporodásnál az egyedszám egy adott térrészben maximálva volt, így értük el, hogy az egyedek ne alakíthassanak ki tetszőlegesen magas egyedsűrűséget. Bevezettem egy modellt, ahol a baktérium ágensek mozgását a fizikából kölcsönzött potenciálfüggvényekkel írjuk le, oly módon hogy az azonos fajok között a Lennard-Jones (LJ) potenciállal leírható vonzó-taszító kölcsönhatások, a különböző fajok között a Weeks-Chandler-Andersen (WCA) potenciálhoz hasonló taszító- és semleges kölcsönhatások lépnek fel. Ezáltal a korábbiaknál realisabb rendszert kaptam a baktérium egyedek mozgásának felírására.

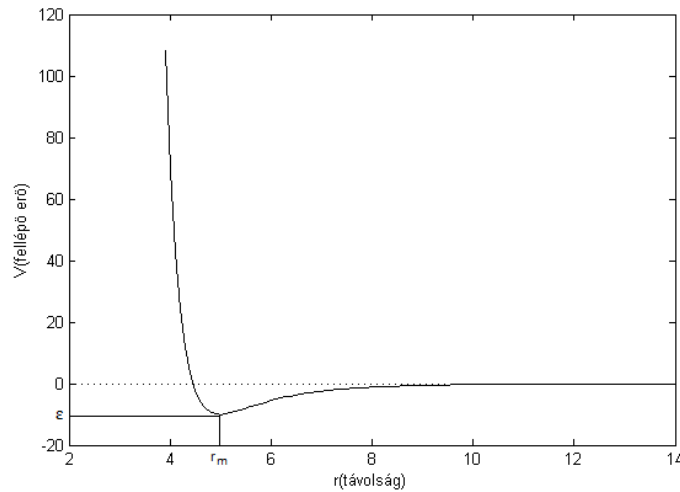
3.3.1. Lennard-Jones potenciál

Az egyedek közötti vonzási kölcsönhatások leírására leggyakrabban a Lennard-Jones potenciálokat használják [42]. A 3.3.1 egyenlet az egymástól r távolságra lévő részecskék (baktériumok) között fellépő kölcsönhatás erősségét írja le:

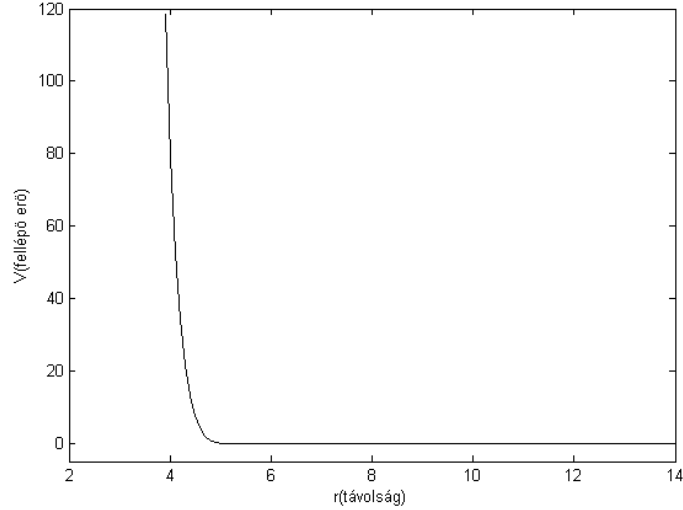
$$V = 4\epsilon \left[\left(\frac{\sigma}{r} \right)^{12} - \left(\frac{\sigma}{r} \right)^6 \right] = \epsilon \left[\left(\frac{r_m}{r} \right)^{12} - 2 \left(\frac{r_m}{r} \right)^6 \right] \quad (3.3.1)$$

ahol V jelöli a fellépő erőt, ϵ a potencia gödör mélységét, σ azt a távolságot, ahol a két részecske között fellépő erő 0, r_m pedig azt az optimális távolságot, ahol a maximális vonzás alakul ki közöttük.

Az egyenlet első tagja a részecskék közötti taszítást, második tagja pedig a vonzást írja le, vagyis a kialakult V érték minél nagyobb, annál nagyobb taszító erő lép fel a részecskék között. A potenciál távolságtól való függése a 3.3.1 ábrán látható. A görbe



3.3.1. ábra: Lennard-Jones potenciál: két részecske közötti kölcsönhatás (V) a közöttük lévő távolság (r) függvényében.



3.3.2. ábra: Weeks-Chandler-Andersen potenciál: két részecske közötti kölcsönhatás (V) a közöttük lévő távolság (r) függvényében.

mutatja, hogy ha a részecskék egymáshoz nagyon közel kerülnek, taszítják egymást, továbbá van egy optimális távolság (r_m), ahol a maximális vonzás alakul ki közöttük, ahogy pedig egyre távolabb kerülnek egymástól, úgy a közöttük fellépő erő nullához tart.

3.3.2. Weeks-Chandler-Andersen potenciál

A Lennard-Jones potenciálhoz hasonlóan olyan egyenlet is bevezethető, mely a fajok taszítását írja le, például két, különböző fajú egyed egymáshoz, ha közel kerül, taszító erőt fejtenek ki egymásra, mely a kettejük közötti távolság növekedésével lecseng, értéke nullához tart. Az ennek leírására használt egyenletet Weeks-Chandler-Andersen potenciálnak nevezik [43], melyet a 3.3.2 egyenlettel írhatunk le:

$$U_{WCA}(r) = \begin{cases} 4\varepsilon \left[\left(\frac{\sigma}{r} \right)^{12} - \left(\frac{\sigma}{r} \right)^6 \right] + \varepsilon & r < 2^{1/6}\sigma \\ 0 & r \geq 2^{1/6}\sigma \end{cases} \quad (3.3.2)$$

A Weeks-Chandler-Andersen potenciál értéke tehát bizonyos r küszöbig származtatható a Lennard-Jones potenciálból, a távolságküszöb felett pedig nulla értéket vesz fel.

A potenciál görbéje az egyedek távolságának függvényében a 3.3.2 ábrán figyelhető meg. Látható, hogy egymás közelében az egyedek között erős taszítóhatás figyelhető meg, mely gyorsan lecseng, bizonyos távolság felett elhanyagolható, nullának tekintjük.

4. fejezet

Két faj közötti versengés nyílt és zárt térben

Két faj versengésének vizsgálatakor a nem kommunikáló (SN) és a nem kooperáló (SB) mutánsokkal, valamint a vad típusú (WT) egyedekkel dolgoztam. Ezek a quorum sensing kialakításában részt vevő gének kiütésével, deléciójával előidézhetőek, ahogy azt az 1.1.1. fejezetben bemutattam. Laboratóriumi kísérletek során az így kapott mutánsok, valamint vad típusú egyedek együttélése kétféle eredményt mutat. Zárt térben, tehát rázott kultúrákban mindkét mutáns látszólag gyorsabban nő, mint a vad típusú populáció, ezzel ellentétben nyílt térben a nem kommunikáló mutánsok stabilan együtt tudnak működni a vad típusú egyedekkel, a nem kooperáló mutánsok viszont összeomlást okoznak. Az alábbiakban két csoport munkáját mutatom be, melyek mindegyike *P. aeruginosa* fajjal dolgozott, egyik esetben nyílt, míg másik esetben zárt környezetben.

Diggle és munkatársai rázott, folyadék alapú baktériumtenyészetekkel kísérleteztek, mely kísérletek során egyedül a *las* rendszer delécióit vizsgálták, a kapott egyedeket a *lasI* mutációjakor SN^L , míg a *lasR* mutációjakor SB^L mutánsoknak nevezzük [36].

A táptalajon egyedül futtatva a két mutáns egyedét, azok lassabban nőttek, mint a vad típusú egyedekből álló kolónia. Külső, szintetikus jel hozzáadásával az SN^L egyedek képesek voltak a WT-khez hasonló gyorsasággal növekedni, ami nem meglepő, hiszen ezek a mutáns egyedek működő *lasR* génjüknek köszönhetően képesek reagálni a jelmolekulák megemelkedett koncentrációjára. Ezzel ellentétben az SB^L mutánsok továbbra sem tudták fokozni külső jel hatására növekedésüket, mivel a *lasR* gén deléciója megakadályozza őket ebben.

Egy másik kísérlet során Diggle-ék páronkénti versengést vizsgáltak WT+ SN^L és WT+ SB^L egyedek között. Mindkét esetben a mutáns fajok túl tudták nőni a vad típusú egyedeket, mely okát a kisebb energia-költséggel magyarázták. Emellett vitatható, hogy a működő *rhl* rendszer nem vezethetett-e önmagában a mutáns egyedek elszaporodásához.

Ez utóbbi felvetés vizsgálatára Venturi és munkatársai kettős mutációt alkalmaztak

munkájuk során [63]. A kettős mutáció SN egyedek esetén a *lasI* és *rhlI* gének delécióját, míg SB mutánsok esetén a *lasR* és *rhlR* génekét jelentette. A kapott egyedeket rendre SN^{LR} és SB^{LR} mutánsoknak nevezzük. A kísérleteket más táptalajon, agar lemezeken vitték véghez. Vad típusú egyedek önállóan fraktál-szerű, rajzó populációt alakítottak ki, míg az SN^{LR} és az SB^{LR} mutánsok nem voltak képesek rajzani, gyakorlatilag a kezdeti populációval megegyező populációk voltak megfigyelhetők a kísérlet végeztével is.

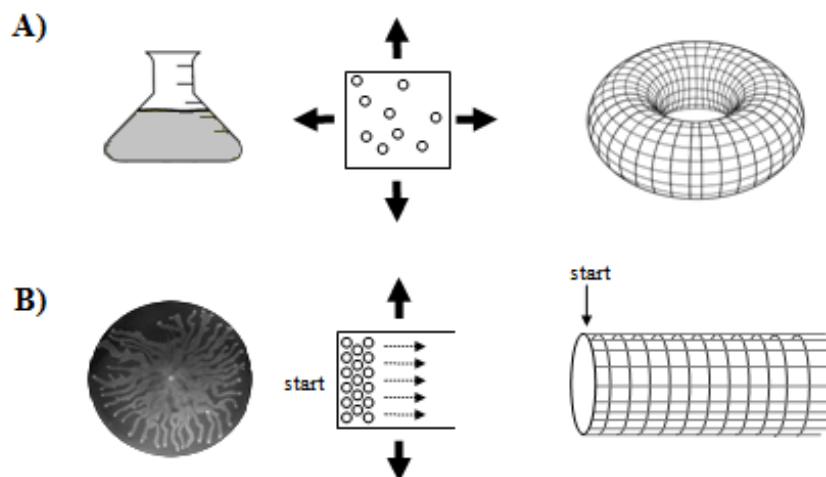
Páronkénti versengést is vizsgáltak a mutáns egyedekkel $WT+SN^{LR}$ és $WT+SB^{LR}$ esetben. $WT+SN^{LR}$ sejtek a csak WT egyedekből álló kolóniáknál ugyan kicsit kisebb, de stabil, rajzó populációt alakítottak ki. $WT+SB^{LR}$ egyedek viszont a kezdetinél alig nagyobb populációt tudtak csak kialakítani, mintha a kezdeti növekedés hirtelen megtorpanna volna.

4.1. A hipotézis felállítása

A fenti eredményeket összevetve jogosan merül fel bennünk a kérdés, vajon mi okozhatta a két csoport által kapott eredmények különbözőségét, mi okozza például, hogy páronkénti versengéskor az SB^L egyedek túlnövik a WT egyedeket, míg az SB^{LR} egyedek esetén a populáció összeomlását látjuk. Egyik kézenfekvő válasz lehetne, hogy az SB^L egyedeknél aktív *rhlR* működésével magyarázzuk az esetükben megfigyelhető nagyobb növekedést. A másik különbség a két kísérleti összeállítás között a használt táptalaj geometriája volt.

Érdekes kérdést vet fel továbbá, hogy egy adott baktérium populációt stabilnak tekinthetünk-e. Evolúciós értelemben egy populációt stabilnak mondunk, ha a deléciós mutációkkal kapott egyedek nem tudnak elszaporodni rajta. Diggle-ék kísérletei során mind az SN, mind pedig az SB mutánsok el tudtak szaporodni a WT egyedeken, vagyis a WT populáció nem stabil. Venturi-ék agar lemezeken végzett kísérletei során $WT+SB$ egyedek versengésekor megfigyelt lokális összeomlás során mindkét faj kihalt. Fontos szempont azonban, hogy az összeomlás csak lokálisan volt megfigyelhető, a populáció más területein a WT egyedek tovább tudtak nőni. Ilyen értelemben a kísérletek során tekinthetjük a WT populációt stabilnak.

Munkám során tehát a fenti jelenségekkel foglalkoztam, vagyis a kétféle mutáns, valamint a vad típusú egyedek nyílt és zárt térben történő modellezését vizsgáltam. Céлом annak a hipotézisnek az igazolása volt, mely szerint a két laboratóriumi kísérlet sorozat eredményei közötti különbségek a két táptalaj geometriája (rázott folyadék, illetve agar lemez) közötti eltérésekkel magyarázhatóak. Nevezetesen, modellezési szempontból a Diggle-ék által használt rázott kultúrákat tekinthetjük zárt modellnek, míg Venturi-ék agar lemezei esetén nyílt térről beszélhetünk. A természetben megfigyelhető baktérium kolóniák esetén is találkozhatunk ezzel a kettősséggel, habár sosem annyira tisztán, mint laboratóriumi körülmények között, vagy számítógépes szimulációk esetén. A természetesen szaporodó baktériumok esetén, ha kis helyre bezártan helyezkednek el az egyedek,



4.2.1. ábra: Nyílt és zárt táptalaj kísérleti és szimulációs elrendezései; A: a zárt, rázott, folyadék alapú baktériumtenyészetet egy négyzetként reprezentáljuk, mely szélein periodikus határfeltételt értelmезünk (nyilak), melyet egy toroid felületként képzelhetünk el; B: az agar lemezek nyílt terét egy téglalap alakú 2 dimenziós térként ábrázoljuk, mely két oldalán periodikus határfeltételt valósítunk meg (nyilak), az ágensek (körök) pedig hosszanti irányban haladnak rajta (pontosított nyilak), a felületet hengerként képzelhetjük el.

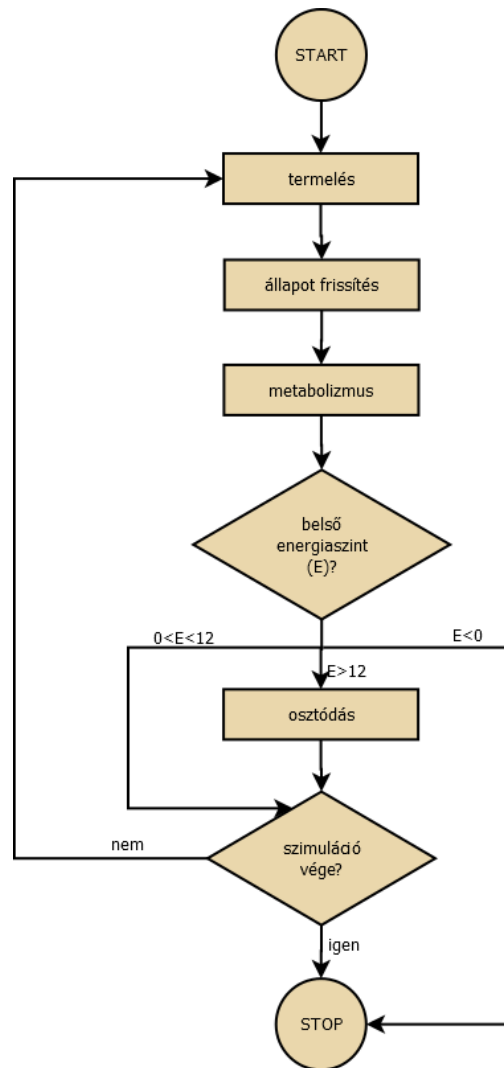
keves jelmolekula is elég a quorum sensing beindításához, míg egy nyílt, nagy tér esetén (pl. tengervíz) sokkal több molekulára, sokkal több baktérium közös aktivitására van szükség, hiszen az anyagok könnyen el tudnak diffundálni a sejtek környezetéből.

A szimulációk során egy adott faj esetén mindig csak egy QS rendszerrel dolgoztam. Ez azt is jelenti, hogy deléciós mutációk esetén nem volt kérdéses számomra, hogy egyszeres, vagy kettős mutációt vizsgáljak, a kapott eredményeket nem tudta befolyásolni másik, még éppen működő QS rendszer, így azok mindenképpen valamilyen más tényező hatására alakultak ki – feltevésünk szerint a nyílt és zárt elrendeződések közötti különbségeknek köszönhetően.

4.2. Nyílt és zárt tér definiálása

A fentiekben felállított hipotézis igazolására szimulációkat kellett végezni nyílt és zárt táptalajon. A 2. fejezetben ismertetett modell nyílt, hiszen a hosszanti irányban végtelennek feltételezett táptalaj éppen azt a célt szolgálta, hogy az egyedek a szimuláció során sose tudjanak a táptalaj szélére eljutni. Ezek után egy ehhez hasonló, ám zárt rendszert hoztam létre, mely segítségével a fent ismertetett hipotézist tudtam igazolni.

A zárt modell tehát a már meglévő modellen alapulva született. Megalkotásakor egy olyan rendszer létrehozása volt a cél, melyben az egyedek egy kis térben mozognak, ahol a környezet homogénnek feltételezhető, így az egyes egyedek hatását közvetlenül



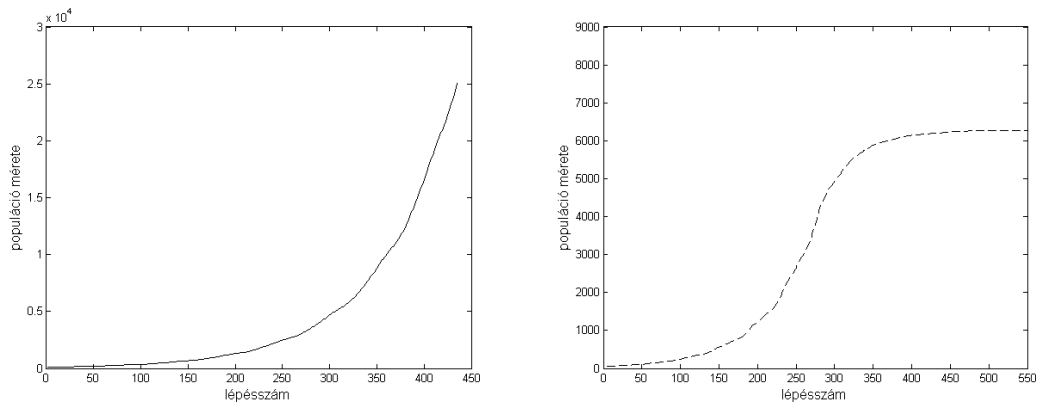
4.2.2. ábra: Baktérium ágensek folyamatábrája zárt modell esetén; az ágensek születésük után minden ciklusban sorban az alábbi lépéseket hajtják végre, míg meg nem halnak: jelet és faktort termelnek, állapotot váltanak, tápanyagot fogyasztanak, valamint a létfenntartáshoz szükséges energiával csökken energiaszintjük és osztódnak (ha egy bizonyos küszöb fölött van energiájuk).

érzékelheti az összes többi egyed [36].

A kis teret a nyílt rendszer egyetlen cellájának modellezésével érhetjük el, míg a homogén környezet a teljes térben konstans tápanyag-, jel-, illetve faktor szintet jelent. Annak érdekében, hogy ténylegesen zárt térről beszélhessünk a cella minden oldalán periodikus határfeltételt valósítottam meg – a korábbi végtelen hosszú táptalajjal ellentétben. Diffúziót nem értelmeztem a környezetben, továbbá az ágensek mozgásával sem kellett számolnom, hiszen a baktériumok pozíciója nem befolyásolja a szimuláció kimenetét.

A nyílt és a zárt modellek közötti különbség az 4.2.1 ábrán látható.

A program felépítése hasonlít a korábbiakban ismertetethez, egy adott cikluson belül az ágensek életciklusa került megvalósításra, mely az 4.2.2 ábrán figyelhető meg.

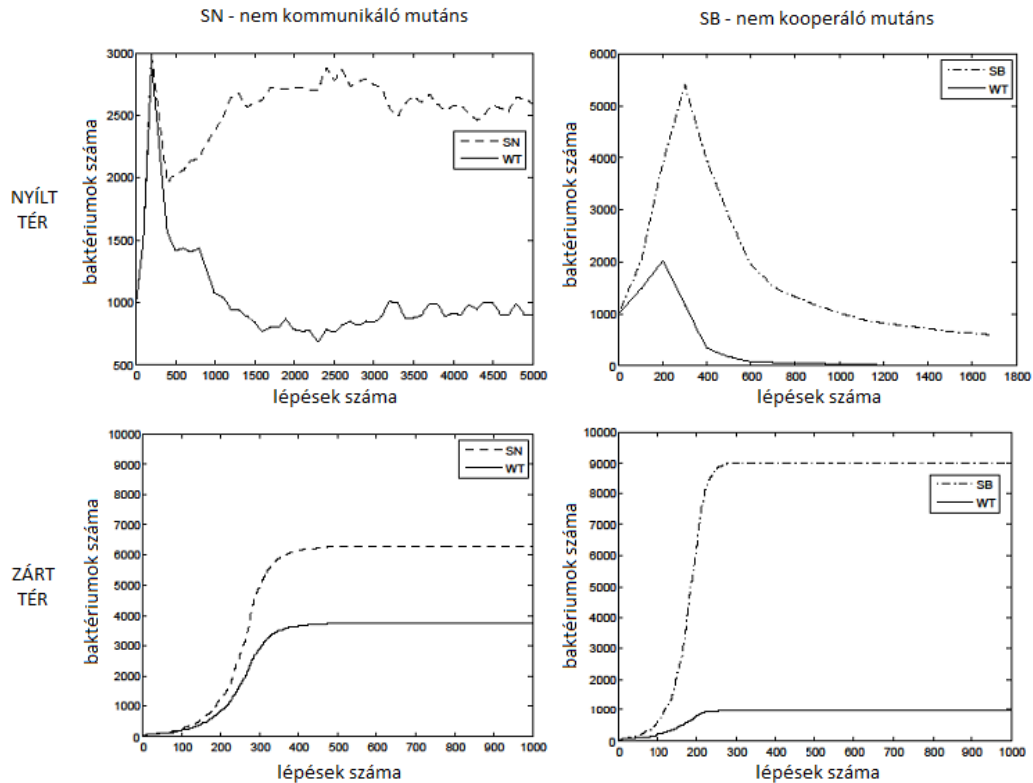


4.2.3. ábra: Exponenciális (folytonos görbe) és logisztikus növekedés (szaggatott görbe).

Először tehát jelet és faktort termelnek az egyedek éppen aktuális állapotuknak megfelelően. Ezt követi az állapot frissítés a környezetbe került új anyagok (jel és faktor) függvényében, majd a metabolizmust valósítottam meg, végül pedig az energiaszint függvényében osztódnak azok az ágensek, melyek ehhez kellő energia szinttel rendelkeznek.

Abban az esetben, ha a tápanyag elfogy az egész rendszerből, néhány kört követően az egész kolónia kipusztul. Nyílt esetben a táptalaj méretével tudtuk elérni, hogy ez ne következzen be, ám jelen esetben erre nincsen lehetőségünk, ezért új megfontolást kellett tenni, mely szerint a tápanyag nem csökken. Ez nyilvánvalóan nem tükröz egy teljesen valós helyzetet, ám mivel célunk nem az, hogy a zárt térben a kolónia teljes élettartamát szimuláljuk, hanem, hogy megtaláljuk az egyensúlyi állapotát, az előbb ismertetett probléma kikerülésére megfelelő. A 4.2.2 ábra szerint elméletben továbbra is meghalnak azok az egyedek, melyek energiaszintje 0 alá kerül, ám mivel a környezetben lévő tápanyag végtelen, így valójában sosem fog ez a feltétel teljesülni.

További gondot okozhatna az így kialakuló, végtelenbe tartó populáció méret (4.2.3 ábra). Ezt a populációs viselkedési formát az irodalomban exponenciális növekedésnek, vagy első leírója, Thomas Malthus után Malthus-modellnek is szokták nevezni [66, 67, 68]. A valóságban azonban a populáció növekedése idővel lelassul, és beáll valamilyen egyensúlyi állapotba, egy „S”-alakú populációnövekedést eredményezve (4.2.3 ábra). Ennek leírására Pierre-François Verhulst alkotta meg a logisztikus növekedés elvét, mely modell a zárt terekben a populáció méretének alakulását írja le [67, 69, 70, 71]. Lényege, hogy a populáció növekedésére negatív hatással van a környezeti erőforrások korlátozott mennyisége, így a növekedés mértéke idővel csökken [72]. Ehhez hasonló megjelenést úgy értem el, hogy maximalizáltam a táptalaj teherbírását, vagyis definiáltam azt az egyedszámot, melyet maximálisan képes eltartani az adott táptalaj. Miután az egyedszám meghalad egy bizonyos küszöbértéket (pl. az elérhető maximum felét), lineárisan egyre csökkenni fog a körönkénti tápanyag felhalmozása, majd a maximális egyedszámhoz érve nullára áll be, innentől az egyedek által felvett tápanyagmennyiség minden körben éppen a létfenntartáshoz szükséges értékkel lesz egyenlő, így az egyedek nem tudnak közelebb kerülni



4.3.1. ábra: Vad típusú és mutáns egyedek versengésének eredményei nyílt (fent) és zárt (lent) térben; a kísérletek során a két faj – WT (folytonos görbe) és SN (szaggatott görbe), vagy SB (pont-vonal) mutáns – mindig azonos arányban volt megtalálható a kezdeti populációban; az ábrákon a populációk méretének alakulása látható a lépésszám függvényében.

az osztódási küszöbhez, a populáció növekedése leáll.

4.3. Két faj közötti versengés, a felállított hipotézis igazolása

Munkám során megvalósítottam a nem kommunikáló (SN) és a nem kooperáló (SB) mutánsok modellezését. A két faj versengésének vizsgálatakor arra voltam kíváncsi, mi történik abban az esetben, amikor a két fajt ugyanakkora kezdeti populációval indítjuk a szimuláció során. Négy esetet vizsgáltam, WT + SN és WT + SB egyedek szimulációját nyílt és zárt környezetben.

A kapott összeállításokról egy-egy tipikus eredmény az 4.3.1 ábrán figyelhető meg. Az ábra első sorában a nyílt, második sorában a zárt tér eredményei látszanak. A bal oszlop WT + SN, míg a jobb oszlop WT + SB egyedek szimulációs eredményeit mutatja. Megfigyelhető, hogy nyílt és zárt esetben is az SN egyedek jelentősen túlnövik a WT-ket, és együtt egy stabil, rajzó populációt alakítanak ki. WT + SB egyedek esetén a nyílt és zárt térben való szimulációknak teljesen más eredménye lett. Nyílt térben az SB egyedek

hirtelen nagyon elszaporodtak a WT-ken, majd mikor ennek hatására a kiszorított WT populáció egyedszáma visszaesett, mivel nem volt senki, aki fenntartsa a rajzási állapotot, vagyis faktor molekulákat termeljen, az SB-k egyedszáma is jelentősen lecsökkent. Az SB-k annyira kiszorították a WT-eket, hogy azok rövid idő után ki is haltak, ezzel egy összeomló társadalmat létrehozva. Zárt esetben ezzel ellentétben szintén megfigyelhető a kezdeti túlnövés az SB faj esetén, mely nem esik vissza, beáll egy egyensúlyi állapotra, mely a WT + SN esethez képest jelentősen kevesebb WT-t, és több SB-t tartalmaz.

A kapott szimulációs eredmények nagyon hasonlítanak a Diggle és Venturi kísérletei során kapott kimenetekhez [36, 63]. Ahogy az 4.1. fejezetben olvasható, Venturi-ék WT és SN egyedekből álló populációk esetén rajzó, míg WT és SB esetén összeomló populációkat kaptak. Ezzel szemben Diggle-ék bármelyik deléciós mutációval kapott faj esetén azt az eredményt kapták, hogy WT egyedekkel versenyeztetve a mutánsok túl tudták nőni azokat. Tehát Venturi kísérletei az általam vizsgált nyílt, míg Diggle-é a zárt modell eredményeit mutatták. Ebből arra következtethetünk, hogy a két csoport laboratóriumi körülmények között létrehozott kísérleti eredményei közötti különbségek okát az alkalmazott táptalajok geometriájának, nem pedig a használt deléciós mutációk eltérőségeiben kereshetjük.

Egy kis, zárt térben a vad típusú egyedek által termelt, quorum sensing során használt molekulák mennyisége gyorsan telítődik, szaturálódik, minek hatására egy olyan környezet alakul ki, ahol a QS már nem nélkülözhetetlen a rajzás fenntartásához. Ezzel ellentétben egy valós, nyílt térben a kémiai anyagok mennyiségének lehetősége van diffúzió segítségével kiegyenlítődni, megakadályozva a nagymértékű felhalmozódást. Éppen ez a jelenség okozhatja a nyílt és zárt terek teljesen eltérő viselkedését, továbbá ezzel magyarázhatjuk azt is, hogyan képesek bizonyos fajok kísérleti körülmények között (zárt térben) sokkal életképesebben viselkedni, mint ahogy azt a természetben megfigyelhetjük.

4.4. További kísérletek – invazivitás vizsgálata

Mindamellett, hogy két faj versengése során melyik faj képes elszaporodni a másikon, érdekes kérdést vet fel annak vizsgálata, mely esetekben tekinthetjük a vad típusú egyedeket stabilnak. Az 4.1. fejezetben szereplő definíció értelmében stabilnak akkor mondhatunk egy fajt, ha a deléciós mutációkkal kapott egyedek nem képesek elszaporodni rajta. Amennyiben ez mégis bekövetkezik, és a mutáns egyedek kerülnek ki győztesként az együttélésből, azokat invazívnak mondjuk. Az invazivitás feltétele, hogy nem csupán a kezdeti 50-50%-os elrendeződés esetén képesek túlnőni a másik fajt, hanem ennél jelentősen kedvezőtlenebb – kisebb arányból indított – helyzetben is. Az alábbi fejezetben a két (nyílt és zárt) elrendezés esetén azt vizsgálom, milyen feltételek mellett lesznek invazívak az SN és SB egyedek.

4.4.1. Invazivitás a zárt modellben

A zárt modellnél a kezdeti 50-50%-os arány esetén láthattuk, hogy képesek mind az SN, mind pedig az SB egyedek túlnőni a WT populációt (4.3.1 ábra). Csökkentve a mutáns fajok arányát azonban a szimulációk során azt tapasztaltam, hogy ez a túlnövés nem mindig következett be, hiába állítottam a táptalaj eltartóképességét egyre nagyobbra – ezáltal egyre hosszabb időt adva a fajoknak, hogy kialakíthassák az egyensúlyi populációt. Végiggondolva a kialakított elrendezést ez nem tűnik indokoltnak, hiszen a térbeli függést elhagyva az egyedek ugyanolyan esélyekkel rendelkeznek, az egyetlen különbség a két faj között, hogy a mutánsok kisebb, vagy nagyobb mértékben kevesebb energiát fogyasztanak, ezáltal folyamatosan több energiát képesek elraktározni, ezzel egy gyorsabb szaporodási rátát eredményezve. Éppen ezért tovább vizsgáltam a kapott eredményeket.

A korábban bevezetett fitnessz érték alkalmas annak eldöntésére, melyik faj teljesít jobban a populációban, melyik faj növekedése gyorsabb. Az 4.1 táblázatban két példa (95 : 5-ös és 99 : 1-es WT : mutáns arány) esetén láthatjuk az átlagos relatív fitnessz értékeket tíz szimuláció eredményeiből számítva. Jól megfigyelhető, hogy habár csak egyetlen esetben (5 SB : 95 WT) képesek a szimuláció ideje alatt túlnőni a WT egyedeket a mutációval rendelkező egyedek, a mutáns faj mindig fittebb, mint a vad típusú egyedek. Látható továbbá, hogy az SN egyedek növekedési előnye jelentősen kisebb, mint az SB-ké. Ez természetesen könnyen magyarázható a mutánsok közötti különbségekkel, hiszen az SN egyedek többlet energia felhalmozása kisebb azáltal, hogy a jeltermelésben nem veszik ki a részüket, mint az SB-ké, akik a sokkal költségesebb faktorok termelését nem hajtják végre. Ez indokolja azt, hogy az SB egyedek esetén az 5 : 95-ös kezdeti arány még elegendőnek bizonyult ahhoz, hogy a szimuláció alatt túlnőjék a WT-eket, az SN-eknél viszont ugyanakkora eltartóképesség esetén a végpopulációban még mindig a WT-k voltak többségben. Mindezekből arra következtethetünk, hogy idővel, ha kellően nagy lélekszámmal, illetve egyedszámmal futtatnánk a szimulációkat, az SN és SB egyedek képesek lennének túlnőni a WT baktériumokat.

4.1. táblázat: Invazivitás eredményei (végpopulációk mérete, illetve relatív fitnessz értéke) zárt rendszer esetén 95 : 5-ös és 99 : 1-es WT : SN illetve WT : SB kezdeti arányok esetén.

	WT végpopuláció	Mutáns végpopuláció	WT relatív fitnessze	Mutáns relatív fitnessze
5 SN : 95 WT	25 105,9	2324,1	1,007	1,102
5 SB : 95 WT	12 222,6	25 470	0,999	1,754
1 SN : 99 WT	25 261,4	435,2	1,001	1,141
1 SN : 99 WT	25 189,6	15 853,4	1,006	1,767

4.2. táblázat: Rajzási állapot alatt megfigyelhető lépésenkénti energiafelvétel és energiafelhasználás WT, SN és SB egyedek esetén.

	WT	SN	SB
Energiafelvétel (E_{fel})	0,5	0,5	0,5
Jeltermelés (E_s)	0,025	-	0,075
Faktor termelés (E_f)	0,15	0,15	-
Metabolizmus (E_m)	0,1	0,1	0,1
$E_{fel} - E_s - E_f - E_m$	0,225	0,25	0,325

Azt, hogy ez a túlnövés melyik lépésszám környékén következik be, valamint, hogy mekkora az ekkor megfigyelhető populáció mérete, az exponenciális növekedés segítségével – mely alapja a felhasznált logisztikus megközelítésnek is – számíthatjuk ki.

A program paramétereinek segítségével kiszámíthatjuk, hogy rajzási állapotban az egyes fajok mekkora energiafelhalmozással rendelkeznek (4.2 táblázat, A. függelék), továbbá ezen érték, illetve az osztódási küszöb (12), osztódás utáni energiaszint (0, 2) segítségével azt is megkaphatjuk, átlagosan hány körönként duplázódik meg az adott fajhoz tartozó egyedek száma. Ez az érték WT esetén 48, SN-nél 43, 2, míg SB-nél 27, 32 szimulációs lépésnek adódott. Ebből a növekedési állandó (k) a $k = \frac{\ln(2)}{T_d}$ képlet segítségével számolható, ahol T_d a duplázódás ideje.

Az exponenciális növekedés egyenletébe behelyettesítve, majd két faj (a lenti példánál WT és SB) esetén megoldva a kapott egyenletet megkapjuk azt a lépésszámot, amikor a két faj egyedszáma megegyezik.

$$N_t = N_0 \cdot e^{kt},$$

$$N_{0,SB} \cdot e^{k_{SB}t} = N_{0,WT} \cdot e^{k_{WT}t} \quad (4.4.1)$$

ahol N_t a t . időpillanatban mért, N_0 pedig a kezdeti populációs méret, $N_{0,WT}$ és $N_{0,SB}$ a kezdeti populációs méret rendre WT és SB esetén, k_{WT} és k_{SB} pedig a növekedési állandó szintén a két faj esetén.

A kezdeti 95 : 5-ös WT : SB arány esetén a fenti módszerrel számolva az utolérés lépésszáma 270-nek adódott. Tíz szimuláció eredményeit figyelembe véve átlagosan 274,5 lépés volt szükséges az SB egyedeknek, hogy túlnőjék a WT-ket. Az, hogy valamekkora eltérés van a számolt és a szimulációk során kapott érték között, elkerülhetetlen, hiszen véletlenszerű események is közrejátszanak a pontos eredmény kialakításában (például osztódás után nem egy fix értékre áll be az egyedek energiaszintje). Ezeknek az eseményeknek a várható értékével tudtam csak számolni, továbbá azt feltételeztem, hogy az egyedek kezdettől fogva rajzási állapotban vannak, ami valójában csak néhány lépést követően (kb. az 5. körben) következik be, így az egyedek energiaraktározása a szimulációk elején valamivel kisebb. Mindezek ellenére elmondható, hogy egy jó közelítést kaphatunk

4.3. táblázat: Számítási eredmények arra vonatkozóan, mely lépésszámnál, és mekkora egyedszám esetén képesek a mutáns baktériumok elérni a WT egyedek populációs méretét, különböző kezdeti egyedszám arányok esetén; t jelöli azt a lépésszámot, ahol a mutáns egyedszáma utoléri a WT-jét, N_t pedig az ennél a lépésnél megfigyelhető fajonkénti egyedszámot.

Kezdeti egyedszám			t	N_t
WT	SN	SB		
70		30	77,73	209,44
80		20	127,18	480,536
90		10	201,58	1543,12
95		5	270	4267,306
99		1	421,57	37 728
70	30		529,6	143 475
80	20		866,5	$2,1 \cdot 10^7$
90	10		1373,27	$3,5 \cdot 10^{10}$
95	5		1840,27	$3,05 \cdot 10^{13}$
99	1		2872	$9 \cdot 10^{19}$

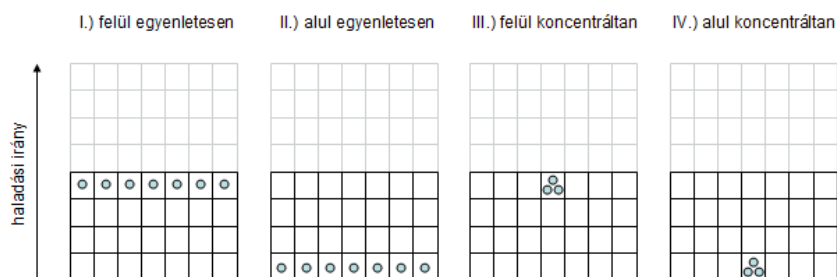
ily módon arra, mely lépésnél, és mekkora populációnál várható, hogy a mutáns fajok túlnőjék a vad típusú egyedeket. Ezeket az eredményeket az 4.3 táblázat foglalja össze (ahol t az a lépésszám, ahol a mutáns egyedszáma utoléri a WT-jét, N_t pedig az ennél a lépésnél megfigyelhető egyedszám az egyes fajokra).

Az eredményekből kiolvasható, hogy a zárt modell esetén, hosszú távon mindig a mutáns fajok kerülnek ki győztesként az együttélésből, így invazívnak tekinthetjük őket annak ellenére, hogy a túlnövekedés a használt paraméterek mellett gyakran csak igen nagy populációs méretek esetén tud kialakulni.

4.4.2. Invazivitás a nyílt modellben

Nyílt tér esetén a fajok között versengés alakul ki a tápanyagért, ami folyamatos mozgásra készíti az egyedeket. Éppen ezért a kialakuló együttélésnek már nem egyértelműen a mutáns egyedek lesznek a győztesei. Az invazivitás vizsgálata során nem csak a fajok arányának kezdeti értékét, hanem a térbeli elhelyezkedésnek a hatását is figyeltem. Kíváncsi voltam rá, milyen hatással lesz a kialakuló populációra, ha kezdetben koncentráltan (egymáshoz a lehető legközelebb), vagy ha egyenletesen elosztva helyezkednek el a mutáns egyedek a táptalajon, illetve ha a táptalaj kiindulási cellái közül a legalsóba, vagy feljebb, a tápanyagforráshoz közelebb helyezzük őket (4.4.1 ábra).

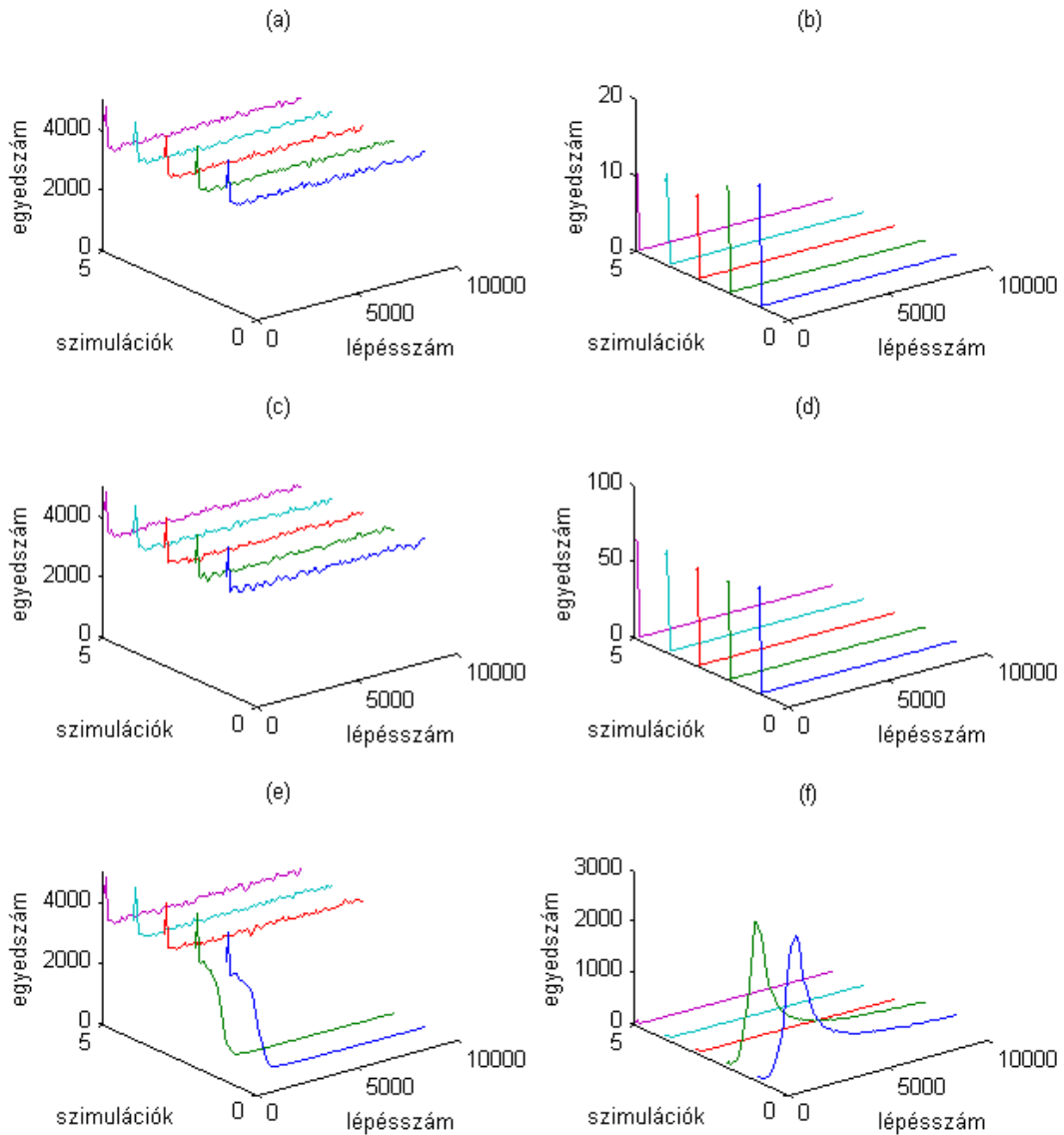
Az 4.4.2, 4.4.3, 4.4.4 és 4.4.5 ábrák mindegyike 15-15 szimuláció eredményét mutatja



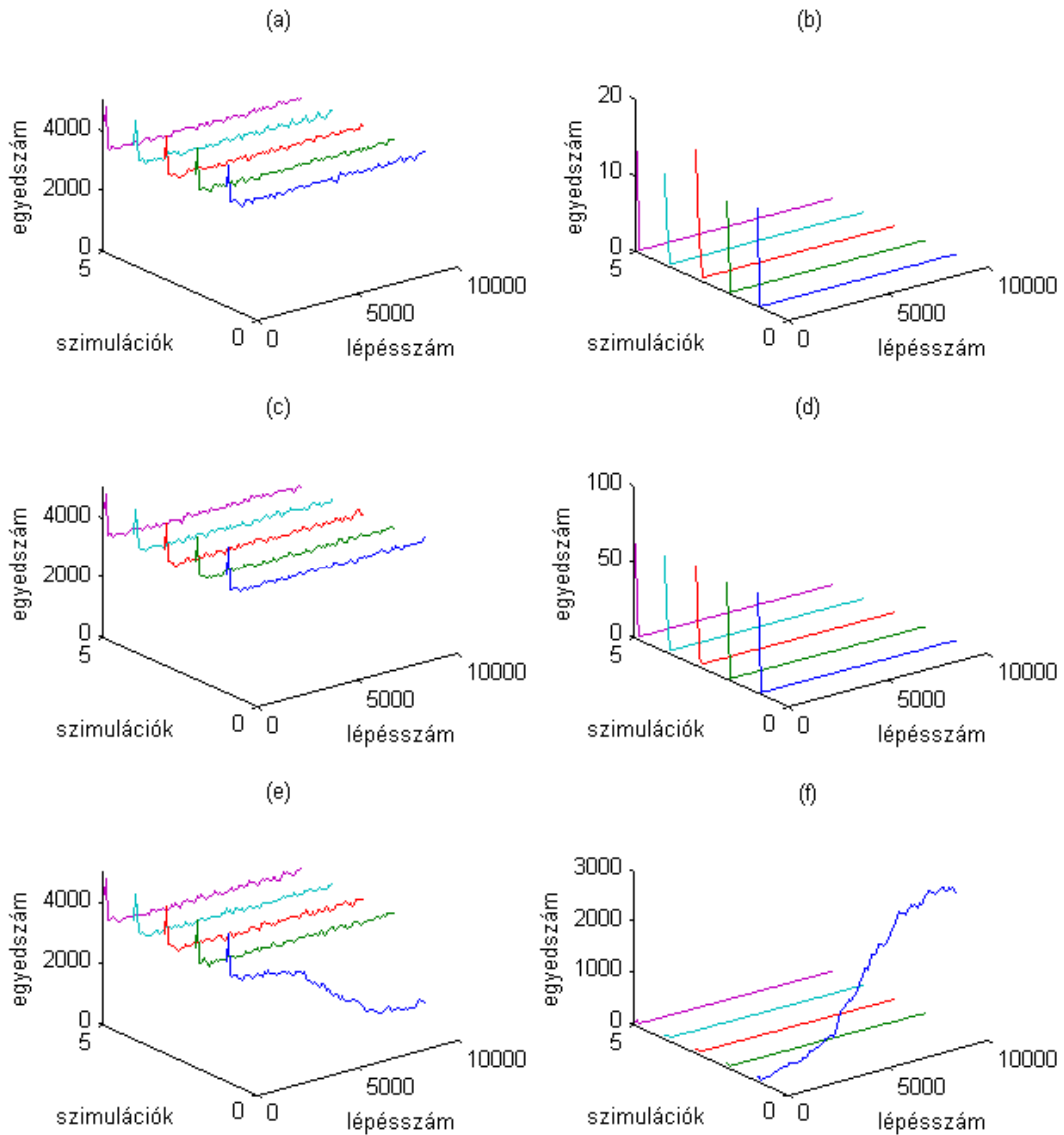
4.4.1. ábra: Kezdeti elrendezések nyílt talajon; késsel a mutáns egyedek vannak jelölve; négy eset figyelhető meg: I.) a kiindulási cellák közül a legfelsőkben, egyenletesen elosztva, II.) a kiindulási cellák közül a legalsóban, egyenletesen elosztva, III.) a kiindulási cellák közül a legfelsőkben, koncentráltan, illetve IV.) a kiindulási cellák közül a legalsóban, koncentráltan helyezkednek el a mutáns egyedek. Mind a négy esetben a többi pozíció az alsó négy sorban WT egyedekkel van feltöltve.

be. Mindegyik ábrán az egymás melletti grafikonok együtt értelmezendők, a bal oldali mindig a WT, a jobb oldali pedig a mutáns faj egyedszámának alakulását mutatja az idő függvényében. Minden ilyen grafikon-pár 5-5 szimuláció eredményeit mutatja, melyek azonos kezdeti feltételek mellett lettek lefuttatva, az azonos színű görbék tartoznak ugyanahhoz a szimulációhoz. A grafikonok x tengelye a lépésszámot, y tengelye az egyes szimulációkat, míg z tengelye a populáció méretének alakulását mutatja.

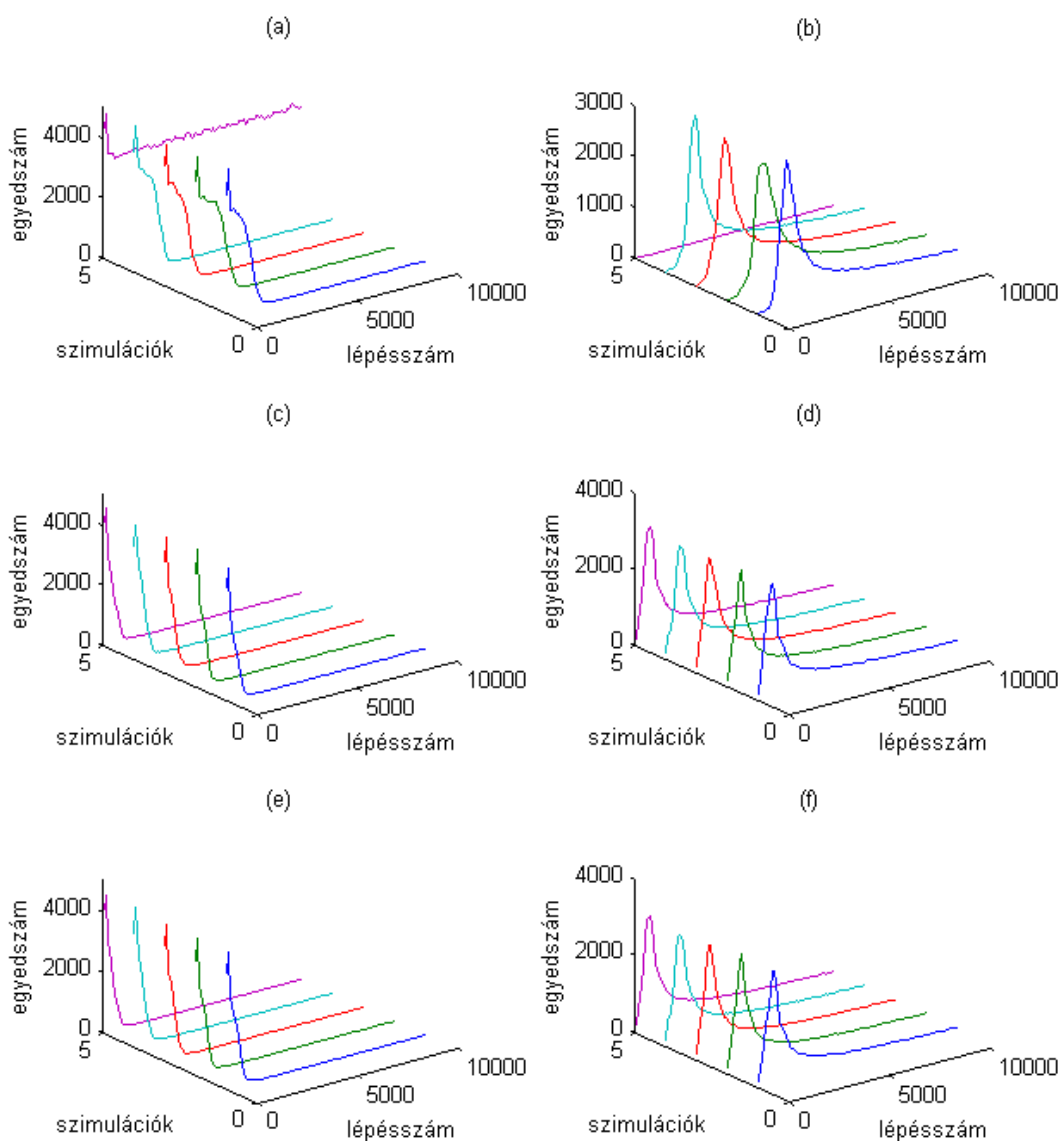
Az 4.4.2 ábrán az SB, míg az 4.4.3 ábrán az SN egyedek szimulációi figyelhetőek meg, minden esetben a táptalaj alsó négy sora oly módon volt kezdetben feltöltve, hogy csak a legalsóba kerültek mutáns egyedek, a többibe csak WT-k (10-10 cellánként). Mindkét ábrán az (a)-(b) esetben a legalsó sor középső cellájában 1 mutáns és 9 WT, a többi cellában 10-10 WT volt. A (c)-(d) szimulációknál a legalsó sor minden cellájában 1 mutáns és 9 WT (összesen 50 mutáns), illetve a (e)-(f) esetben az alsó sor középső 5 cellájában 10-10 (összesen 50) mutáns, míg a többi cellában csak WT egyedek voltak kezdetben. Megfigyelhető, hogy mind az SN, mind az SB esetén az alsó sorban kezdetben elhelyezett egyetlen, illetve egyenletesen elszórt 50 darab mutáns baktérium sem elegendő a túléléshez, ezek a szimulációk mind a mutánsok kihalásával, valamint a WT-k rajzó, egyensúlyi populációjának kialakulásával végződtek. Abban az esetben, amikor kezdetben koncentráltan volt a táptalajon elhelyezve az 50 mutáns egyed, mindkét fajnál azt figyelhetjük meg, hogy bizonyos esetekben a korábbiakhoz hasonlóan a mutáns egyedek kihalásával ért véget a szimuláció, viszont néhány esetben képesek voltak azok elszaporodni, és az 4.3.1 ábrán, 50-50%-os indításkor kialakított egyensúlyi populációhoz hasonló végpopulációt alakítottak ki. Ez a WT + SB együttélése esetén (4.4.2/e-f ábra) az SB-k hirtelen elszaporodását, a WT-k teljes visszaszorítását és kihalását jelenti, melynek hatására az SB populáció is összeomlik, idővel egy egészen alacsony egyensúlyi egyedszámmra szorul vissza. A WT + SN esetben (4.4.3/e-f ábra) ezzel ellentétben az SN-ek ugyan túlnövik a WT-eket, de nem szorítják ki őket, egy rajzó egyensúlyi populációt alakítanak ki.



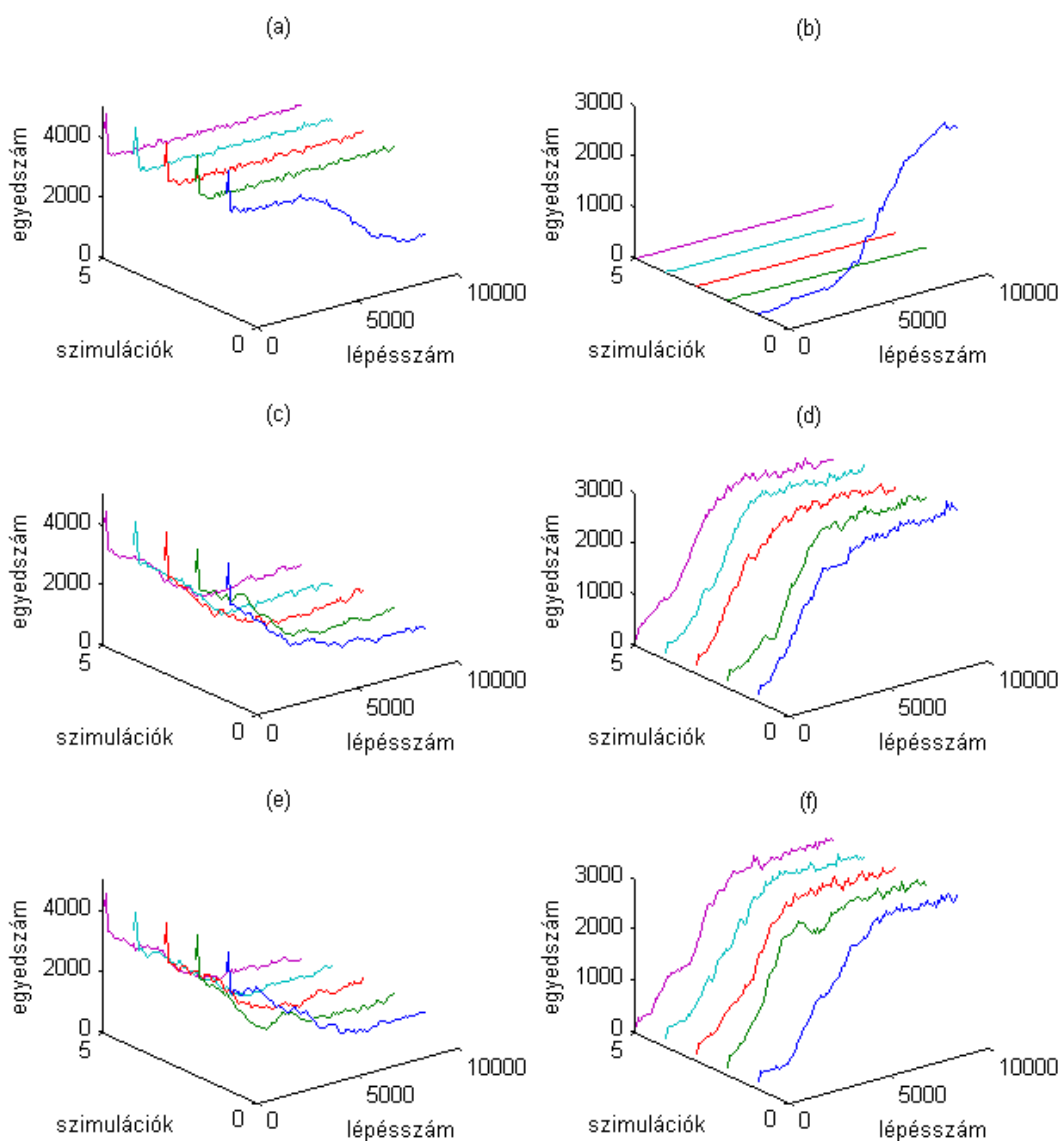
4.4.2. ábra: WT + SB együttélése során kialakuló populációs görbék; az egymás melletti ábrák összetartoznak, a bal oszlop mindig a WT, a jobb pedig az SB egyedszámait mutatja. Minden sorban 5 különböző szimuláció eredménye látható, 5 külön színnel jelölve, ahol a színek szerint tartoznak össze a jobb és bal oldal görbéi. A szimulációknál mindig a legalsó sorba kerültek mutáns egyedek: az ábra (a)-(b) részén középen 1 db, a (c)-(d) részábrák esetén minden cellában 1-1 (összesen 50) db, míg az (e)-(f) részábránál a középső 5 cellában koncentráltan 10-10 (összesen 50) db SB volt kezdetben.



4.4.3. ábra: WT + SN együttélése során kialakuló populációs görbék; az egymás melletti ábrák összetartoznak, a bal oszlop mindig a WT, a jobb pedig az SN egyedszámait mutatja. Minden sorban 5 különböző szimuláció eredménye látható, 5 külön színnel jelölve, ahol a színek szerint tartoznak össze a jobb és bal oldal görbéi. A szimulációknál mindig a legalsó sorba kerültek mutáns egyedek: az ábra (a)-(b) részén középen 1 db, a (c)-(d) részábrák esetén minden cellában 1-1 (összesen 50) db, míg az (e)-(f) részábránál a középső 5 cellában koncentráltan 10-10 (összesen 50) db SN volt kezdetben.



4.4.4. ábra: WT + SB együttélése során kialakuló populációs görbék; az egymás melletti ábrák összetartoznak, a bal oszlop mindig a WT, a jobb pedig az SB egyedszámait mutatja. Minden sorban 5 különböző szimuláció eredménye látható, 5 külön színnel jelölve, ahol a színek szerint tartoznak össze a jobb és bal oldal görbéi. A szimulációknál mindig a legfelső (negyedik) sorba kerültek mutáns egyedek: az ábra (a)-(b) részén középen 1 db, a (c)-(d) részébrák esetén minden cellában 1-1 (összesen 50) db, míg az (e)-(f) részébránál a középső 5 cellában koncentráltan 10-10 (összesen 50) db SB volt kezdetben.



4.4.5. ábra: WT + SN együttélése során kialakuló populációs görbék; az egymás melletti ábrák összetartoznak, a bal oszlop mindig a WT, a jobb pedig az SN egyedszámait mutatja. Minden sorban 5 különböző szimuláció eredménye látható, 5 külön színnel jelölve, ahol a színek szerint tartoznak össze a jobb és bal oldal görbéi. A szimulációknál mindig a legfelső (negyedik) sorba kerültek mutáns egyedek: az ábra (a)-(b) részén középen 1 db, a (c)-(d) részébrák esetén minden cellában 1-1 (összesen 50) db, míg az (e)-(f) részébránál a középső 5 cellában koncentráltan 10-10 (összesen 50) db SN volt kezdetben.

4.4. táblázat: Invazivitás nyílt és zárt modell esetén.¹

Kezdeti arányok	Zárt modell válasza	Nyílt modell válasza
Nem kommunikáló (SN) mutáns		
1 SN : 1999 WT	„+” (100%)	„+” (0-65% együttélés) ²
50 SN : 1950 WT	„+” (100%)	„+” (0-100% együttélés)
1000 SN : 1000 WT	„+” (100%)	„+” (100%)
Nem kooperáló (SB) mutáns		
1 SB : 1999 WT	„+” (100%)	„+” (0-55% összeomlás)
50 SB : 1950 WT	„+” (100%)	„+” (0-100% összeomlás)
1000 SB : 1000 WT	„+” (100%)	„+” (100% összeomlás)

¹ a „+” azt jelenti, hogy a mutáns egyedek képesek voltak felnőni, SN esetén együttélést, SB esetén pedig összeomlást eredményezve. A zárójelekben található százalékos értékek jelzik, hogy a 20 szimulációnak hány százalékában következett be ez a kimenet.

² sztochasztikus, pozíció- és sűrűségfüggő eredmények.

Az 4.4.4 és 4.4.5 ábrán a kezdeti elrendezésekkor az SB (4.4.4 ábra) és SN (4.4.5 ábra) egyedek a legfelső (negyedik) sorba kerültek. Az előzőekhez hasonlóan az ábrák (a)-(b) részénél a sor középső cellájában egyetlen, a (c)-(d) esetben minden cellában 1-1, míg az (e)-(f) szimulációknál a középső 5 cellában 10-10 mutáns egyed helyezkedett el. Az első négy sor minden más pozíciója WT egyedekkel volt feltöltve a szimulációk kezdetén. A kapott eredmények azt mutatják, hogy a negyedik sorból indítva a mutánsokat, azok jelentősen előnyösebb helyzetbe kerülnek, mint a legalsó sor esetén, ahol a tápanyagforrástól távolabb voltak. A legfelső sorban néhány esetben már egyetlen SN illetve SB is képes volt elszaporodni a WT egyedeken, a vizsgált, ennél kedvezőbb kezdeti helyzetekben pedig ez mindig bekövetkezett.

Megfigyelhetjük továbbá, hogy a mutáns egyedek túlélésekor, amikor kedvezőtlenebb helyzetből indítjuk őket (4.4.2 és 4.4.3 ábra (e)-(f), valamint 4.4.4 és 4.4.5 ábra (a)-(b)), az egyensúlyi populáció kialakulása lassabban következik be, mint amikor nagyobb egyedszámmal, és/vagy kedvezőbb pozícióból indulnak (4.4.4 és 4.4.5 ábra (c)-(f)). Az így kapott eredményekről egy összefoglalást az 4.4 táblázatban láthatunk.

Nyílt rendszer esetén elmondhatjuk tehát, hogy a mutáns egyedek (mind az SN, mind az SB) invazivitása nagymértékben függ attól, hogy kezdetben mekkora arányban vannak jelen a mutáns egyedek a populációban (sűrűség függés), illetve hogy a szimuláció indításakor a táptalaj mely celláiba helyezzük őket (pozíció függés). Mindemellett azt is megfigyelhetjük, hogy egy adott kezdeti elrendezés esetén a szimulációk eltérhetnek egymástól, a kezdeti elrendezés nem feltétlenül határozza meg egyértelműen a szimuláció kimenetét, vagyis a kapott eredmények sztochasztikusak.

5. fejezet

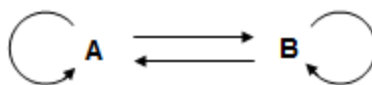
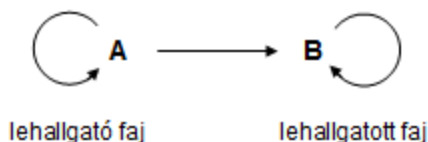
A kommunikáció és kooperáció szimmetrikus és aszimmetrikus típusai

Többféle fajból álló baktérium kolóniák a természetben stabilan tudnak megélni annak ellenére, hogy gyakran az egyes fajok versengenek egymással a környezeti javakért (pl. tápanyagért, területért). A stabilitás a fajok közötti kommunikációnak köszönhető, mely során a fajok képesek megosztani egymással a termelt jeleket, faktorokat.

A QS szabályozás során gyakran használt AHL molekuláknak számos formája használatos a baktériumok körében, mely molekulák kémiai szerkezetükben, acil oldalláncukban térnek el egymástól, ám sokszor nagyon hasonlítanak egymásra, az oldalláncok gyakran csak kicsit különböznek. Éppen ezért sok QS rendszer nem csak egy ilyen molekula érzékelésére alkalmas. Megfigyelhető továbbá az élőlények körében, hogy olykor nem minden jelmolekulát azonos mértékben képesek megkötni a LuxR fehérjék, bizonyos molekulákat már kis, míg másokat csak jóval nagyobb koncentrációban való megjelenésük esetén tudják csak érzékelni [73].

A fent leírt módszer segítségével a baktériumok képesek fajok közötti kommunikációt megvalósítani, azok a fajok, melyek által használt AHL molekulák csak kis mértékben térnek el egymástól, képesek lehetnek egymás jelenlétét bizonyos mértékben észlelni. Például olíva fák egyik betegségének okozója a *Pseudomonas savastanoi pv. savastanoi*, ám emellett gyakran két másik faj jelenléte is megfigyelhető (*Pantoea agglomerans* és *Erwinia toletana*), melyek önmagukban nem patogének. A három fajból álló populáció együtt gyorsabban nő, mint külön-külön, képesek egymás fitnessét növelni és egy stabil populációt kialakítani. Kimutatták továbbá, hogy nem csak egyszerű együttéléstről beszélhetünk, hanem a résztvevő fajok képesek egymás jeleit érzékelni, valamint azokra válaszolni, ezáltal az úgynevezett fajok közötti kommunikációt megvalósítva [74].

Mindehhez hasonlóan, bizonyos baktérium fajok, habár különböző táptalajt preferálnak, mégis képesek lehetnek egymás táptalaján megélni, azokat a tápanyagokat is

a) szimmetrikus kommunikáció**b) aszimmetrikus kommunikáció**

5.0.1. ábra: Szimmetrikus és aszimmetrikus kommunikációs sémák; a) szimmetrikus esetben mindkét faj érzékeli a saját maga által, és a másik faj által termelt anyagokat is; b) aszimmetrikus esetben csak a lehallgató faj érzékeli mindkét faj által termelt anyagot, a lehallgatott csak a sajátját.

valamilyen mértékben megemészteni, ezáltal a tápanyaghasználatban is megfigyelhetünk bizonyos mértékű megosztást.

Alapvetően kétféle kommunikációs séma figyelhető meg a természetben előforduló baktériumok körében, melyek közötti különbséget a 5.0.1 ábrán figyelhetjük meg. Egyik esetben az egyedek megosztják egymással a termelt javakat, mindkét faj érzékeli a másik jelenlétét, a kommunikáció során a két fél egyenlő, közös együttműködéssel alakítanak ki egy populációt. Ezt szimmetrikus kommunikációnak nevezzük. Aszimmetrikus esetben előfordulhat, hogy csak az egyik faj „hallgatja le” a másikat, így csak az egyik résztvevőnek származik előnye a kialakuló, egyoldali kommunikációból. Ilyen esetekben lehallgató, és lehallgatott fajról beszélhetünk. Egymás lehallgatása előnyt jelenthet például, ha egy másik faj meg akarja támadni a kolóniát, ilyen esetekben lehallgatással a támadó faj távol tartható a populációtól. A későbbiek során ez utóbbi esettel, tehát az aszimmetrikus kommunikációval foglalkoztam, ennek során kapott eredményeket mutatom be részletesen, majd röviden összehasonlítom ezeket az eredményeket a szimmetrikus kommunikáció során kialakuló mintázatokkal.

A következő fejezetek során tehát arra a kérdésre keresem a választ, hogy hatással van-e a fajok versengésére, ha megosztják egymással kommunikációs anyagaikat, továbbá, hogy befolyásolja-e a kapott eredményeket - és ha igen, milyen formában - ezen anyagok megosztásának mértéke.

5.1. Idegen jelek érzékelése: Lehallgatás

5.1.1. Populációs mintázatok, és azok megkülönböztetése numerikus eszközökkel

A szimulációk során mindig két fajjal dolgoztam. A fajok mindegyike vad típusú, tehát önállóan rajzó populációt kialakítani képes egyedekből állt. A két faj paraméterei (pl. jel- és faktortermelés mértéke, tápanyagfelvétel mennyisége, stb.) mindig megegyeztek, tehát külön-külön futtatva teljesen hasonló viselkedést mutattak. A különbség a két faj között az volt, hogy más-más táplálékkal rendelkeztek, valamint az általuk termelt jelek és faktorok sem egyeztek meg. Aszimmetrikus áthallás esetén az egyik faj azonban képes volt hasznosítani a másik által is használt kémiai anyagokat, ezáltal nyilvánvalóan valamekkora előnyre tudott szert tenni. Arra voltam kíváncsi, hogy együtt futtatva ezt a két fajt, különféle mértékű aszimmetrikus áthallások mellett, kezdetben 50-50%-os megoszlással indítva a két fajt, mi lesz a szimulációk végkifejlete. Az egyedek közötti áthallás három szinten volt megfigyelhető, beszélhetünk a jelmolekula (s), a faktor (f), valamint a tápanyag (n) közös használatáról.

Egy adott faj esetén például a jel érzékelését vizsgálva (ugyanígy a többi molekulára is) 0-tól 1-ig parametrizálhatjuk a jelenlévő két jelmolekula érzékelését. Ez a paraméter tulajdonképpen egy szorzó, mely azt szabja meg, mekkora mértékben érzékeli azokat az adott egyed. Esetünkben 0 a semekkora, 1 pedig a maximális áthallást, illetve érzékelést jelenti. A fajok mindegyike maximálisan, tehát 1-gyel súlyozva képes a saját maga által termelt jelet és faktort érzékeli, valamint a saját tápanyagát hasznosítani. Az $s = 0$, $f = 0$, $n = 0$ eset például azt jelenti, hogy az adott faj egyáltalán nem használja a társa által termelt, illetve megemésztett kémiai anyagokat, ez jellemző az aszimmetrikus kommunikáció lehallgatott fájára. Egy másik példa lehet az $s = 0,5$, $f = 0,5$, $n = 0,5$ paraméter hármas, mely esetén az adott egyedek amellet, hogy a saját maguk által termelt molekulákat maximálisan, a résztvevő másik faj anyagait is érzékelik, 0,5-ös intenzitással, továbbá nem csak a saját tápanyagukat, hanem a másik fajért is képesek megemészteni, ez utóbbit szintén 0,5-ös intenzitással.

A szimulációk során a 2. fejezetben bemutatott nyílt modellt használtam. Kezdetben az ágensek a táptalaj alsó négy sorát töltötték fel, a két faj 50-50%-ban, random módon helyezkedett el ezekben a cellákban. A táptalajon kétféle tápanyag volt kezdetben, egyenlő arányban, egyenletesen elosztva. A szimuláció folyamán az egyedek a korábbiakban ismerttetettnek megfelelően minden ciklusban jeleket és faktorokat termelnek, állapotot váltanak – amennyiben ez indokolt az újonnan érzékelt jel- és faktor szintek értelmében – tápanyagot fogyasztanak, belső metabolizmust hajtanak végre, bizonyos belső energia küszöb felett osztódnak, majd random mozgással elmozdulnak a táptalajon. Az egyedek közötti áthallások mértékét aszimmetrikus esetben a 5.1 táblázatban leírt összefüggéseknek megfelelően értelmezhetjük. Az összefüggésekből látható, hogy a saját maga

5.1. táblázat: Jelben, faktorban, illetve tápanyagban való áthallás aszimmetrikus kommunikáció esetén a résztvevő két fajra (lehallgató és lehallgatott) felírva.

	Lehallgató (1.) faj	Lehallgatott (2.) faj
Jel	$1 \cdot S_1 + s \cdot S_2$	$1 \cdot S_2$
Faktor	$1 \cdot F_1 + f \cdot F_2$	$1 \cdot F_2$
Tápanyag	$1 \cdot N_1 + n \cdot N_2$	$1 \cdot N_2$

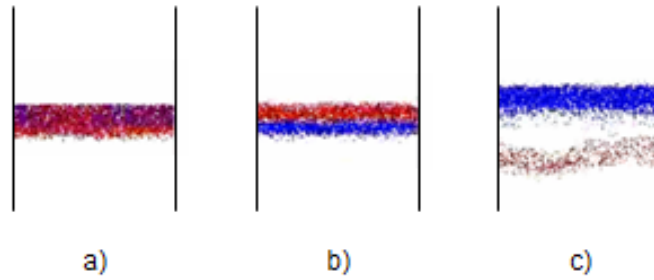
által termelt jelet, faktort és tápanyagot mindkét faj 1-es szorzóval, vagyis maximális súllyal érzékeli/fogyasztja. Emellett a lehallgató faj mindhárom molekula esetén a másik fajhoz tartozókat is képes bizonyos mértékben érzékelni. Ennek az áthallásnak a mértéke jel esetén s , faktor esetén f , míg tápanyag esetén n . Például jel esetén az S_1 , illetve S_2 azt az értéket jelöli, amennyi jelet a lehallgató (S_1), vagy a lehallgatott (S_2) faj képes érzékelni – F_1 és F_2 , valamint N_1 és N_2 értékeket is hasonlóan definiálhatjuk a faktor, illetve a tápanyag esetén.

Az előzetesen elvégzett szimulációk során azt állapíthatjuk meg, hogy a versengések kimeneteként kapott elrendeződések mindegyike néhány, jól elkülönülő csoportba sorolható.

Bizonyos esetekben kevert, rajzó, stabil populációt alkotott a két faj [75], mely populációban mindkét résztvevő jobban teljesített, nagyobb populációt volt képes kialakítani, mint amire önállóan képes lett volna. Ilyen esetekben a populáció szegregációs indexe nulla körüli, mindkét faj relatív fitnessze pedig 1 fölötti volt.

Más esetekben a szimulációk valamelyik faj győzelmével végződtek, mely egyben a vesztes faj kiszorítását is jelentette. Ez a kiszorítás kétféle módon valósult meg – a környezetben található tápanyag mennyiségének függvényében – néha a vesztes faj kihalását, más esetekben pedig annak egy stagnáló, nagyon kis egyedszámú jelenlétét figyelhettük meg a kialakult populációban [75, 76]. Emellett a győztes faj egy jelentősen nagyobb egyensúlyi populációt volt képes létrehozni. A jelenség kétféle módon következett be, amikor egyik faj egyértelműen előnyösebb paraméterekkel rendelkezett, mint a másik, mindig ez előbbi faj lett az együttélés győztese. Amikor a két fajt hasonló esélyekkel – paraméterekkel – indítottuk, a szimuláció eredménye sztochasztikusan változott, vagyis bármelyik faj kikerülhetett győztesként. Mindkét esetben a fajok szegregáltságát figyelhettük meg, továbbá a győztes faj relatív fitnessze 1 körüli értéket vett fel az egyensúlyi állapotban.

Végül bizonyos esetekben a két faj egymástól elkülönülve tudott stabil populációkat kialakítani, ezt szegregációnak hívjuk [59]. Ez esetben is beszélhetünk a kialakuló populáció „győztes” fajáról, hiszen ha a két faj ugyanazon a táptalajon fut, az elől lévő faj, melyik az új tápanyagforrásokhoz közelebb helyezkedik el, valamekkora előnybe kerül a másik fajhoz képest. Ismét megfigyelhető volt, hogy a kezdeti paraméterek függvényében



5.1.1. ábra: Két fajból álló populációk versengése során kialakuló mintázatok; a) kevert populáció, b) szegregáció, c) egyik faj győzelme.

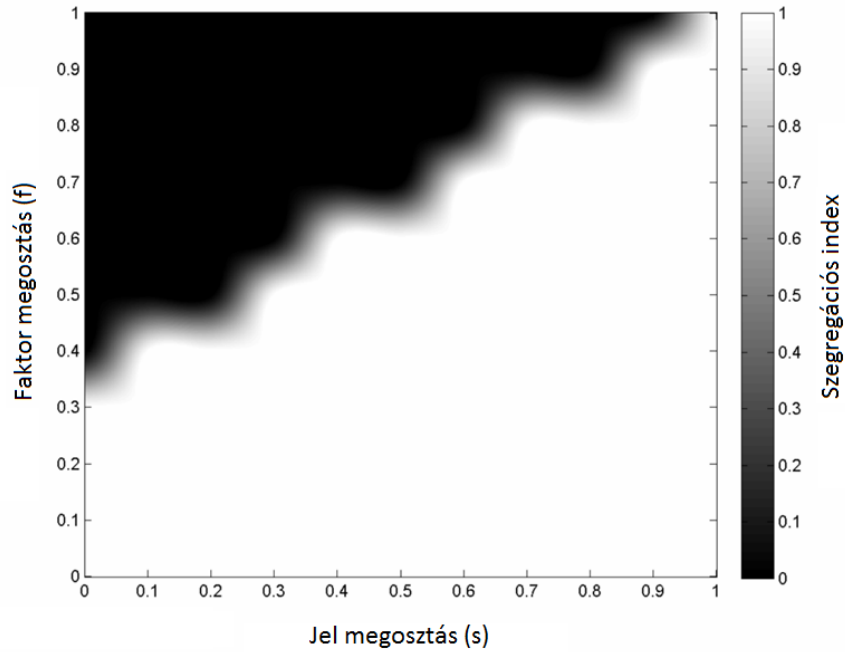
néha minden esetben ugyanaz, míg máskor sztochasztikusan bármelyik faj kerülhetett ebbe az előnyösebb pozícióba. A sztochasztikus szegregáció esetén megfigyelhető volt, hogy néha a vezető faj egy adott szimuláció végeredményében is változott, a táptalaj bizonyos részein az egyik, míg máshol a másik faj győzelmével alakult ki a szegregált populáció, ezzel egy ún. mozaikszerű mintázatot létrehozva. A relatív fitnessz a „győztes” faj esetén mindig valamivel nagyobbak adódott, de mindkét esetben 1 körüli értéket vett fel. Az említett mintázatok a 5.1.1 ábrán figyelhetőek meg.

A fentiek alapján tehát, annak érdekében, hogy az említett típusokat matematikailag is el tudjuk különíteni egymástól, érdemes minden esetben megvizsgálni az egyes fajok relatív fitnesszét (3.2.1. fejezet), mely segítségével megállapíthatjuk, melyik faj teljesített jobban a szimuláció végére. Kiszámíthatjuk továbbá a szegregációs indexet (3.2.2. fejezet), mely segít annak eldöntésében, vajon tényleges kommunikációról beszélhetünk-e a két faj között, tehát kevert populációt figyelünk-e meg, valamint érdekes lehet a két faj populációs méreteinek összehasonlítása is.

Az áthallás vizsgálatokor a kapott $[0, 1]$ intervallumot 0,1-es lépésközökre osztottam. Ez mindhárom paraméter (s , f és n) esetén 11, összességében $11^3 = 1331$ esetet, 1331 szimulációt jelent az aszimmetrikus lehallgatás vizsgálata esetén.

Annak érdekében, hogy az 1331 szimulációból származó adatokat kezelni, valamilyen kompakt módon megjeleníteni tudjak, a 3.2.3 fejezetben bemutatott ábrázolási módot alkottam meg. Minden egyes tápanyagban való átfedési szintre készítettem egy-egy hő-térképes megjelenítést, mely esetén az x tengely a jelben-, az y tengely pedig a faktorban való átfedést jelölte. A hőkép színei a fenti paraméterek valamelyikének (pl. szegregációs index) értékeit jelölték (5.1.2 ábra), a későbbi összehasonlíthatóság érdekében a hőkép színei mindig a $[0, 1]$ intervallumon mozogtak, vagyis a kiszámított változók 1-re normált értékeit jelenítettem meg.

Az így kapott kétdimenziós ábrákat – vagyis a különböző tápanyagban való áthallások során kapott eredményeket – kiértékeltem, megállapítottam, hogy a paraméterter egyes részein milyen mintázatok (pl. stabil együttélés, kihalás, szegregáció) figyelhetőek meg, majd a hőképeket három dimenzióban egymás fölé helyezve vizsgáltam meg a teljes



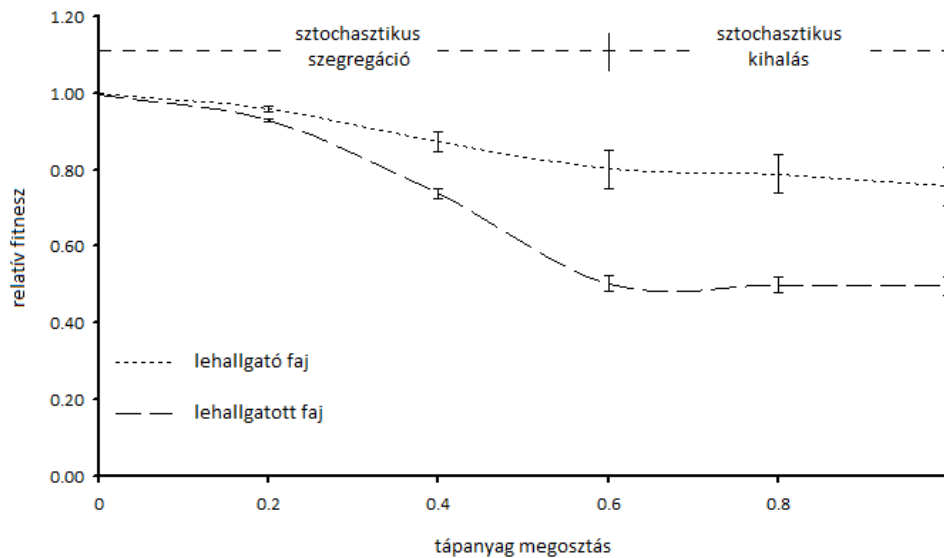
5.1.2. ábra: Példa szegregációs index hő térképes ábrázolására; x tengely a jelben, y tengely a faktorban való megosztást jelenti; a normalizált szegregációs index értéke látható a színtérképen, feketével a 0 közeli értékek, vagyis a kevert, fehérrel (1 körüli értékek) pedig a szegregált populációk vannak jelölve.

paramétertérben – jelben-, faktorban- és tápanyagban való áthallás esetén – megfigyelhető eredményeket.

5.1.2. Aszimmetrikus áthallás quorum sensing nélkül

Az áthallást először kommunikáció nélküli környezetben vizsgáltam. Ilyen esetben jel és faktor nincsen a rendszerben, az egyedek növekedését egyedül a tápanyag mennyisége határozza meg. Így az egyedek közötti áthallás is csak a tápanyag szintjén tud bekövetkezni, aszimmetrikusan megvalósítva az egyik egyed a saját tápanyagán kívül képes valamekkora mértékben megemészteni a társa tápanyagforrását is. Az eredmények azt mutatták, hogy azt az esetet leszámítva, amikor a tápanyagban való áthallás nulla volt ($n = 0$), a lehallgató faj előnyre tudott szert tenni a szimuláció végére, nagyobb végpopulációt kialakítva, mint a lehallgatott társa. Az előny mértéke egyre nőtt, ahogy a lehallgatás nagyságát növeltem. Kis áthallás esetén sztochasztikus szegregációt, míg nagyobb áthallás esetén sztochasztikus kihalást figyelhetünk meg (5.1.3 ábra).

Gause egymással versengő fajok kihalásáról szóló elmélete szerint, ha a két faj más növekedési rátával rendelkezik, minden esetben a fittebb faj kell, hogy győztesként kerüljön ki az együttélésből [77, 78]. A mi esetünkben ezzel szemben a fajok önmagukban ugyanolyan fittek, amiről első megközelítésben gondolhatnánk, hogy az egyedek egyforma helyzetét fogja eredményezni, ám a random mozgást végző ágensek sztochasztikus visel-



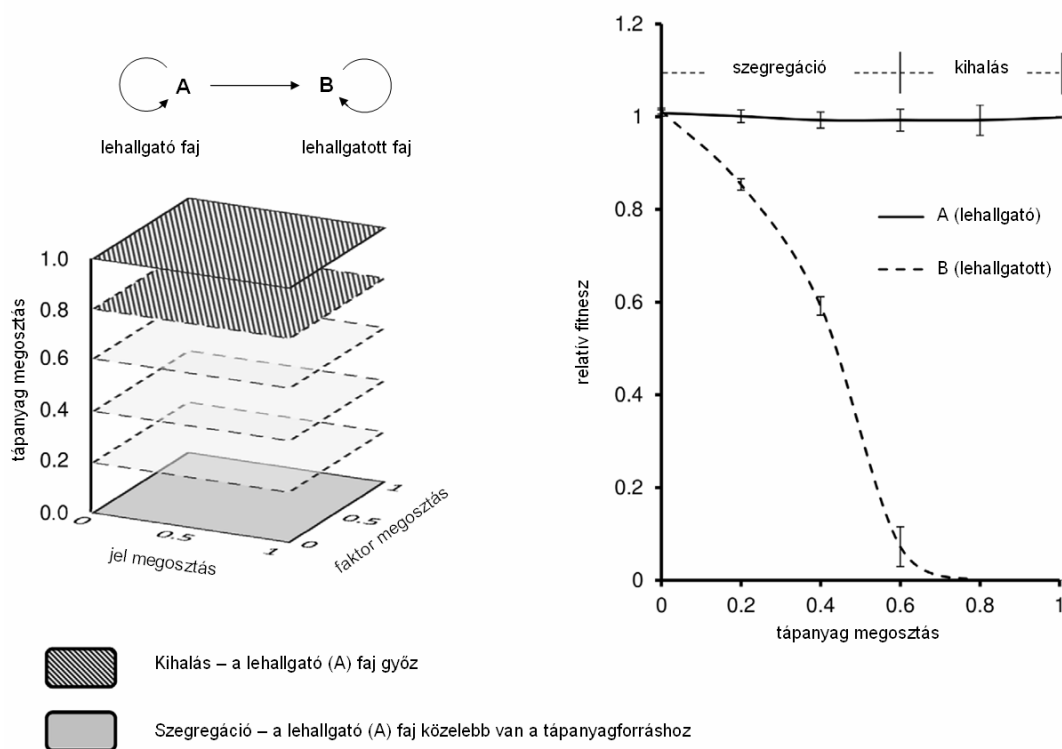
5.1.3. ábra: Tápanyagban való megosztás hatása a relatív fitnessre aszimmetrikus áthallás esetén, QS nélküli rendszerben.

kedésének következtében nem meglepő, hogy az ilyen esetek kimenetele is sztochasztikus, egyszer egyik, másszor a másik faj győzelmével ér véget.

5.1.3. Aszimmetrikus lehallgatás a quorum sensing rendszerben

Ezt követően megvizsgáltam az aszimmetrikus átfedés teljes terét, vagyis megengedtem az átfedést nem csak a tápanyag, hanem a jel és a faktor esetében is. Az eredmények egyértelműen azt mutatták, hogy a lehallgatás a lehallgató faj számára minden esetben előnyös. Az eredmények kimenetét befolyásolta a tápanyagon való osztozás, ugyanis azokban az esetekben, amikor kisebb mértékben ($n = 0..0,7$) tudta a lehallgató faj hasznosítani a másik faj tápanyagát szegregált populációt figyeltem meg, melyet a lehallgató faj vezetett. Amikor ennél nagyobb áthallást definiáltam a tápanyagra ($n = 0,8..1$), a lehallgató faj akkora előnyre tudott szert tenni, hogy a szimulációk a lehallgatott faj kiszorításával, kihalásával végződtek. A lehallgatás minden esetben fitness előnyt jelentett a lehallgatott fajjal szemben. Ezek az eredmények figyelhetőek meg a 5.1.4 ábrán. Az ábra bal oldalán az egyes tápanyag megosztási értékek esetén megfigyelt hőterképek kerültek térben egymás fölé, ezáltal egy háromdimenziós megjelenítést létrehozva a jelben-, faktorban-, valamint tápanyagban való átfedésekből származó eredmények kompakt megjelenítésére. Az ábra jobb oldalán a két faj relatív fitnessze látható a tápanyagban való átfedés függvényében.

Az eredményeket összevetve a nem kommunikáló, aszimmetrikus esettel az mondható el, hogy az aszimmetrikus kommunikáció, vagyis a jelek és faktorok aszimmetrikus megosztása egy egyoldalú fitness előnyt eredményezett a lehallgató fajnak, mely hatá-



5.1.4. ábra: „B” faj lehallgatja az „A” faj QS rendszerét (jel és faktor), illetve tápanyagát. Bal oldalon a teljes paraméterterületén látható, mikor történt kihalás, mikor szegregáció (mindig a lehallgató faj győzelméről beszélhetünk); jobb oldalon a két faj relatív fitnessének alakulását látjuk a tápanyagban való áthallás függvényében.

sára a kialakuló mintázatok – szegregáció és kihalás – már nem sztochasztikusan, hanem determinisztikusan voltak megfigyelhetőek.

A tény, hogy a jelek és faktorok lehallgatása minden esetben előnyösebb helyzetbe juttatta a lehallgató fajt a lehallgatottal szemben, azt mutatja, hogy ez a magatartásforma kifizetődő. Az is megállapítható ennek következményeként, hogy azok a sejtek, melyek LuxR receptora kevésbé specifikus, hátrányba kerülnek, hiszen kevésbé tudják a környezetükben található jeleket értelmezni, nem meglepő tehát, hogy a természetben gyakran találkozunk széles specifitású, és/vagy nem egyetlen QS rendszerrel rendelkező fajokkal. Ehhez hasonló eredményeket Chandler és munkatársai publikáltak [79], akik olyan egymással versengő fajokat vizsgáltak, melyek esetén az ellenfél leküzdésére használt antimikrobiális faktorok termeléséhez QS-re volt szükségük. Munkánk eredményeként ennél általánosabban fogalmazhatjuk meg, hogy a lehallgatás minden olyan helyzetben előnyös lehet, amikor jelek és faktorok megosztásáról beszélhetünk.

5.2. Összehasonlítás kölcsönös jelérzékeléssel

Szimmetrikus áthallást is vizsgálhatunk a korábbiakhoz hasonlóan, vagyis két, vad típusú faj esetén, melyek más jellel és faktorral kommunikálnak, illetve más táptalajon mozognak, de valamekkora mértékben képesek hasznosítani egymás molekuláit. Ebben az esetben mindhárom paraméterben való áthallást szimmetrikusan, vagyis egyenlő mértékben definiáljuk a két fajra. Ez azt jelenti, hogy a populációban a két faj egyenlő lesz, nem beszélhetünk lehallgató, és lehallgatott fajról.

Szimmetrikus áthallás esetén a teljes paraméterteret megvizsgálva három különböző eredményt kaptunk. Faktorban való nagy, valamint jelben való kis áthallás esetén, függetlenül a tápanyag megosztásának mértékétől, mindig kevert, stabilan rajzó populációt kaptunk. Ezekben az esetekben mindkét faj előnyösen került ki az együttélésből, vagyis a vad típusú egyedekéhez képest mért relatív fitnessük 1-nél nagyobb volt. Az egyes jel-faktor síkok többi területén kis tápanyagban való átfedés esetén sztochasztikus szegregáció, míg nagy tápanyag megosztás esetén sztochasztikus kihalás volt megfigyelhető. A faktorok megosztása fontos tényezőnek bizonyult a kooperáló populációk kialakulásában, ez a kooperáció, melynek hatására kevert, stabil, rajzó kolóniákat figyelhetünk meg, az olyan eseteket jelenti, mikor mindkét faj számára előnyösnek bizonyul az együttélés. A stabilan rajzó populációk jelentős részét képezik a paraméterternek, ami arra utal, hogy ilyen populációk a természetben is könnyen elő tudnak fordulni.

Fontos különbség tehát a két eset között, hogy szimmetrikus áthalláskor, ha beszélhetünk az együttélés győzteséről, az mindig sztochasztikusan változott a szimulációk futtatása során, míg aszimmetrikus esetben determinisztikusan, mindig a lehallgató faj került előnyösebb pozícióba. Az aszimmetrikus eset két kimenetéhez képest – kihalás és szegregáció – egy újabbat is megfigyelhetünk, nevezetesen a stabil, kevert populációkat, melyek a természetben gyakran megtalálhatóak. A paraméterternek ez a része felelős a szimbiózisban együtt élő baktériumok csoportjaiért, vagyis feltételezhetjük, hogy valóban a jel-, illetve a faktor molekulák egymással való megosztása eredményezheti az így kialakuló populációs mintázatokat.

A fentiekben megfigyelhető populációs elrendeződések mind megtalálhatóak a természetben is. A lehallgatás, illetve általa a kolónia másik résztvevő fajának kiszorítása akár a bakteriális fertőzésekkel szembeni küzdelemre is egy megoldást adhat, ha sikerül olyan mesterséges, nem kártékony, lehallgató baktériumokat előállítani, melyek képesek egy például fertőzést okozó faj kiszorítására. A stabil, kevert populációk vizsgálata pedig közelebb vihet minket a szimbiózisban élő baktériumfajok viselkedésének pontosabb megértéséhez.

6. fejezet

A térért való versengés modellezése

A természetben a baktériumok mozgása számos formában tud megjelenni. A legjobban ismert mechanizmus az ostorokkal történő mozgás, mely általában vizes közegekben figyelhető meg, míg más fajok kúszó, vagy éppen rángatózó mozgással tudnak előrehaladni. Az ostorokkal mozgó baktériumokat csoportosíthatjuk azok száma és elhelyezkedése szerint. Beszélhetünk egyetlen ostorral-, két, átellenesen elhelyezkedő ostorral-, a baktérium egyik végén sok ostorral-, illetve az egész baktérium felszínét beborító ostorokkal rendelkező baktériumokról. A *P. aeruginosa* többféle mozgás megvalósítására képes, vizes közegben úszva az egyetlen ostora segítségével, míg szilárd felszínen rángatózó mozgással képes előrehaladni.

Kimutatható továbbá, hogy a baktériumok mozgása nem random, bizonyos jelek felé előszeretettel mozdulnak el, míg másoktól igyekeznek távol maradni. Ez jelenthet bizonyos kémiai jeleket (kemotaxis), fényt (fototaxis), vagy akár mágneses teret is (magnetotaxis). Ezek közül számomra a legérdekesebb a kemotaxis jelensége, mely során tehát az egyedek kémiai jelek érzékelésével döntenek el, mely irányba haladjanak. Ezek a kémiai jelek lehetnek az egyedek kommunikációja során termelt molekulák, de akár más, külső jelforrásokból is származhatnak. A kommunikáció során termelt anyagok segíthetik az egyes fajokat, hogy a számukra kedvező, például azonos fajú egyedek környezetében maradjanak, míg más, kedvezőtlenebb fajoktól távol tartsák magukat. Az említett külső jelforrás jelenthet például különféle tápanyagokat, melyek előnyösek az adott faj számára, vagy olyan kémiai anyagokat, melyeket egy sérült gyökér rész tud kibocsátani, mely sérült szakaszt bizonyos baktériumfajok előszeretettel támadnak meg.

A kemotaxis módszerének segítségével tehát megfigyelhető, hogy az egyes fajok a környezetükben található, mások által termelt jelmolekulák segítségével képesek meghatározni azt a pozíciót, ahol előszeretettel helyezkednek el. Abból kiindulva, hogy az egyedek közötti kommunikáció esetén bizonyos jelmolekulák jelenléte az azokat termelő egyedek jelenlétével arányos, valamint bizonyos jelmolekulák felé irányuló mozgás ily mó-

don az azokat termelő egyedek felé való mozgással reprezentálható, ezt a jelenséget az egyedek közötti vonzás, illetve taszítás bevezetésével valósíthatjuk meg, melyet az ún. Lennard-Jones, illetve Weeks-Chandler-Andersen potenciálok felírásával adhatunk meg. A két potenciál részletesebb bemutatása a 3.3.1. fejezetben olvasható.

A 2. fejezetben leírt nyílt modell esetén az egyedek mozgását, mint véletlenszerű mozgás vezetem be, ahol a populáció előre haladását a tápanyag befolyásolja. Az alábbi fejezetben a Lennard-Jones illetve Weeks-Chandler-Andersen potenciálok bevezetésével kapott eredményekkel foglalkozom, mely megközelítés szintén alkalmas a korábban már ismertetett mintázatok (szegregáció, illetve keveredés) kialakulására.

6.1. A korreláció bevezetése

A korreláció egy előszeretettel használt fogalom mind a matematikai, a kémiai, vagy a fizikai szimulációk területén [59]. Két érték, részecske korrelációja alatt egy olyan mérőszámot értünk, mely megadja, mennyire függenek azok egymástól. A koncepció könnyen alkalmazható a sejtek, vagy állatok populációit vizsgáló szimulációk esetére [80, 81]. Az általunk használt szimulációknál a korrelációt például két ágens mozgására értelmezhetjük. Az i és j ágens mozgása korrelál, ha azok sebessége ugyanabba az irányba mutat. Ez esetben a v_i és v_j sebesség vektorok belső szorzata 1 lesz.

A 6.1.1 egyenlet segítségével definiálhatjuk n darab ágens átlagos korreláltságát (c):

$$c = \frac{2}{n(n-1)} \sum_i \sum_{j>i} \vec{v}_i \vec{v}_j \quad (6.1.1)$$

Az átlagos korreláltság 1 közeli értéket vesz fel, ha a populáció egyedei korreláltan mozognak, 0 közeli értéket, ha véletlenszerű mozgással haladnak. Gyakran a korrelációt a populációnak csak egy részére, egy ágensnek valamekkora környezetében szokták vizsgálni. Ezt a környezetet definiálhatjuk bizonyos sugarú körként, vagy az adott ágens valahány legközelebbi szomszédjaként is. Ily módon, a sugár változtatásával vizsgálható például, hogy az ágens mozgása mennyire korrelál a tőle egyre távolabb lévő egyedekével.

Abban az esetben, ha egy populáció több fajból, részpopulációkból tevődik össze, nem csak a teljes populáción, vagy az egyes fajokon belüli korrelációt számolhatjuk ki, hanem érdekes kérdés lehet, hogy két faj egyedeinek a mozgása közötti korreláltság mekkora. Ezt a 6.1.2 egyenlet segítségével tehetjük meg.

$$c_{AB} = \frac{2}{n(A)n(B)} \sum_{i \in A} \sum_{j \in B} \vec{v}_i \vec{v}_j \quad (6.1.2)$$

ahol a két populációt A és B jelöli, a hozzájuk tartozó egyedszámot pedig rendre $n(A)$ és $n(B)$.

Szintén a korrelációs mérések közé sorolhatjuk az autokorreláció számítását [82]. Ez esetben azt vizsgáljuk, hogy egy adott baktérium ágens sebessége két különböző időpillanatban mennyire hasonlít egymásra (6.1.3 egyenlet).

$$c(\Delta t) = \frac{1}{n} \sum_i \vec{v}_{i,t} \vec{v}_{i,t+\Delta t} \quad (6.1.3)$$

ahol Δt jelöli az időintervallumot, melyet vizsgálunk.

A 6.1.3 egyenletet módosíthatjuk, hogy egyedek közötti korrelációt számoljon ki, mely segítségével az is megállapítható egy rajon belül, mely fajok követik társaikat, vagy éppen, hogy melyeket tekinthetjük „vezéreknek” [83].

6.2. LJ és WCA potenciálok paraméterezése baktériumok mozgásának leírására

Ahogy a fentiek mutatják, a Lennard-Jones potenciálok segítségével felírhatjuk az olyan egyedek között fellépő kölcsönhatásokat, melyek szeretnek egymás közelében maradni - például azonos fajú egyedek, vagy kevert populációk - ezt az egymástól bizonyos távolságra lévő potenciálgödör teszi lehetővé [42]. A Weeks-Chandler-Andersen potenciál csak taszító kölcsönhatást ír le az egyedek között, így az tipikusan a különböző fajhoz tartozó egyedek közötti erők felírására alkalmas [43], mely erőnek köszönhetően a résztvevő fajok szegregáltságát várhatjuk kimenetként.

A 2. fejezetben bemutatott nyílt térben az egyedek mozgása random volt. A táptalajon való előrefelé irányuló mozgást a tápanyagszint határozta meg, oly módon, hogy a kolónia mögötti, tápanyagszegény helyeken az egyedek túlélési esélye jelentősen lecsökkent az új, tápanyagban gazdag területekhez képest. A 5.1.1 ábrán megfigyelhető szegregált, illetve kevert mintázatok a fajok belső tulajdonságainak köszönhetően alakulhattak ki. Hasonló, egymással kolóniában élő egyedek kevert populációkat tudtak kialakítani, míg olyan esetben, mikor az egyik faj jelentősebb előnyre tudott szert tenni a másikkal szemben, tőle térben elkülönülve, valamint az előnyösebb, tápanyagban gazdag területekhez közelebb tudtak elhelyezkedni, mint az együttélés „vesztes” faja. Ez utóbbit neveztük térbeli szegregációnak.

A fentiek alapján tehát azt a hipotézist fogalmazhatjuk meg, mi szerint a korábban kapott mintázatok a random mozgás helyett az LJ és WCA potenciálokon alapuló mozgással is megkaphatóak. Ennek igazolására a két potenciál megvalósítását követően azokat a nyílt tér modelljébe integráltuk.

A megvalósítás során minden lépésben, minden egyed esetén a hozzá legközelebbi n darab egyed által meghatározott erők eredőjével számolunk – abban az esetben, ha az egyed bizonyos sugarú közelében nem található ennyi egyed, ennél kevesebbel számolunk, hiszen a nagyon távoli egyedek hatását elhanyagoljuk. Ezt követően az egyed új pozícióját nem teljesen determinisztikusan számoljuk, egyrészt a kiszámított erőhatás, másrészt egy random tag befolyásolja az egyed mozgását, ahogyan a 6.2.1 és 6.2.2 egyenletek mutatják az i . baktérium, j . időpillanatbeli pozíciójának kiszámítását:

$$x_{ij} = x_{i(j-1)} + k \cdot rand_{x_{ij}} + (1 - k) \cdot LJWCA_{x_{ij}} \quad (6.2.1)$$

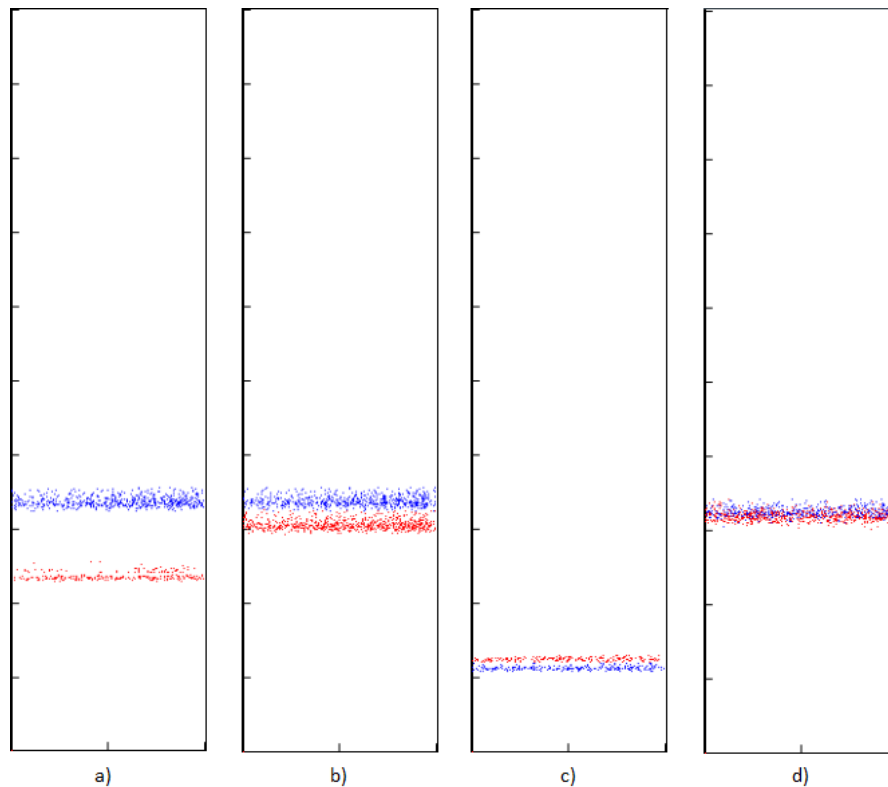
$$y_{ij} = y_{i(j-1)} + k \cdot rand_{y_{ij}} + (1 - k) \cdot LJWCA_{y_{ij}} \quad (6.2.2)$$

ahol x és y az egyed pozíciójának, illetve $rand_x$ és $rand_y$ a random tag x és y komponense. $LJWCA$ a potenciálok alapján számolt erőhatás, k pedig egy tényező, mely befolyásolja, hogy a random, és a potenciálok által meghatározott tagok mekkora súllyal szólnak bele az új pozíció kialakításába.

Egy adott lépésben ahhoz, hogy minden egyedre meghatározzuk a hozzá aktuálisan legközelebb tartózkodó egyedeket $O(n^2)$ -es időre van szükség, ahol n a populáció mérete. Ez nagy populációk esetén jelentősen megnöveli a futási időt, még úgy is, hogy a fellépő erőket csak egyszer, a program futásának elején számoljuk, majd „look-up table”-szerűen minden lépésben csak kiolvassuk a megfelelő értékeket az egyedek közötti távolság (valamint az egyedek fajának) függvényében. Mivel annak bizonyításához, hogy a fenti mintázatokat tudjuk az új módszerrel reprodukálni nincsen szükség nagy populációkra, a teret, valamint arányosan az egyedszámot is lecsökkentettük – a korábbi $50 \cdot 400$ cella helyett most $4 \cdot 500$ -zal számolunk, vagyis éppen tizedannyi cellával kell dolgoznunk – így gyorsítva a program futását.

A potenciál felírására használt egyenletek paramétereinek segítségével megszabható, milyen jellegű szegregációt, valamint populációs elrendeződést akarunk értelmezni a baktériumok esetén. A 3.3.1 és 3.3.2 egyenletben található ε megadja, mekkora legyen a potenciálgödör mélysége (WCA potenciálnál ugyanez a görbe y irányban el van tolva, így ott a potenciál alakját befolyásolja a paraméter). A szintén mindkét egyenletben megtalálható r_m paraméter pedig LJ potenciálnál a két egyed közötti optimális távolságot (WCA esetén azt a pontot, amitől 0-nak tekintjük az egyedek között fellépő taszítást) jelenti.

Két faj szimulációjakor paraméterezhetjük tehát külön-külön az egy adott fajhoz tartozó potenciálokat, valamint a fajok között fellépő erőhatás görbáját. A 6.2.1 ábra négyféle ilyen paraméterezés során kapott eredményt – az egyes szimulációk végén kapott populációs elrendeződéseket – mutatja be. Az ábra a) részénél az egyik fajnál kisebb (piros), míg a másikonál nagyobb (kék) r_m értékkel dolgoztam, a fajok között pedig nagy mértékű taszító erő állt fenn, ennek hatására térben meglehetősen elkülönültek. A b) esetben a két fajon belüli erőhatás ugyanakkora (az előzőek közül nagyobb r_m -mel felírt) volt, a fajok közötti taszítást pedig lecsökkentettem. A c) résznél továbbra is ugyanezzel a fajok közötti taszítással, illetve mindkét faj esetén az a) eset kis r_m -jéhez tartozó potenciállal számoltam. Végül az ábra d) részénél egy kevert populációt láthatunk, mely esetben a fajok közötti, taszító erő görbéjének r_m paraméterét állítottam kisebbre, valamint a teljes potenciálokkal felírt hatást visszaszorítottam a random taghoz képest, továbbá a fajokon belüli LJ görbék a két fajra egyformák, a b) esethez hasonlóak voltak.



6.2.1. ábra: Különbéféle paraméterezésű LJ és WCA potenciálok esetén megfigyelhető végpopulációs elrendeződések a táptalajon.

A használt potenciálok felírásánál használt pontos paramétereket a 6. táblázat foglalja össze.

A különféle potenciál-megvalósítások természetesen a szegregáltság mértékére is hatással vannak, a 6.2.1 ábrán látható, hogy az a) esetben teljesen szegregált a populáció ($S = 1$), míg a b) és c) esetben valamekkora átfedés megjelenik az egymáshoz közel tartózkodó fajok között, bár a szegregáltság mértéke továbbra is nagy (b: $S = 0,98943$, c: $S = 0,97419$). Természetesen a kevert (d) esetben a szegregáltság mértéke jelentősen lecsökkent ($S = 0,35684$).

A kapott eredményekből láthatjuk tehát, hogy abban az esetben, ha az ágensek mozgását az LJ és WCA potenciálok segítségével definiáljuk, a korábban is megfigyelt szegre-

6.1. táblázat: r_0 paraméter beállításai a 6.2.1 ábrán megfigyelhető szimulációk esetén.

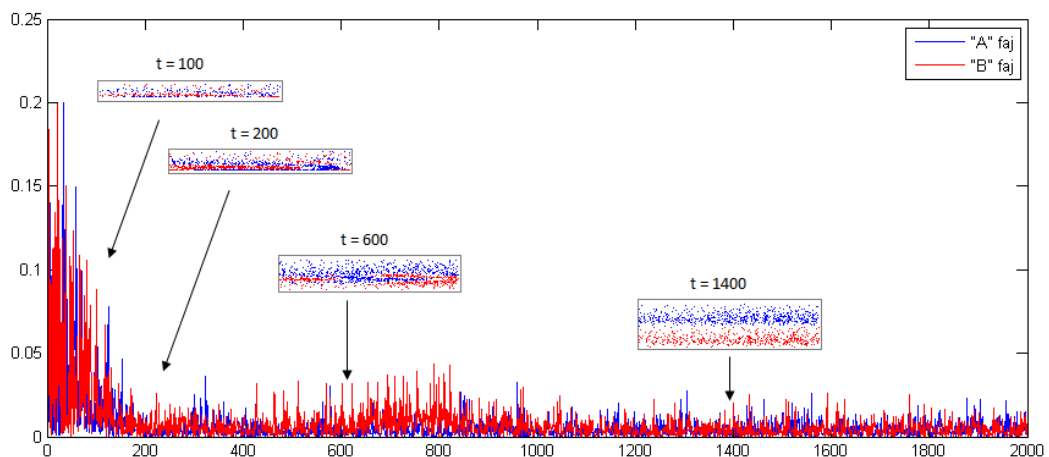
	Egyik fajon belül (piros)	Másik fajon belül (kék)	Fajok között
a)	1	10	30
b)	10	10	30
c)	1	1	10
d)	10	10	1/5

gált, valamint kevert mintázatokot megkaphatjuk, a paraméterek változtatásával egy-egy faj összetartásának mértékét, valamint a fajok közötti szeparáció nagyságát is megváltoztathatjuk.

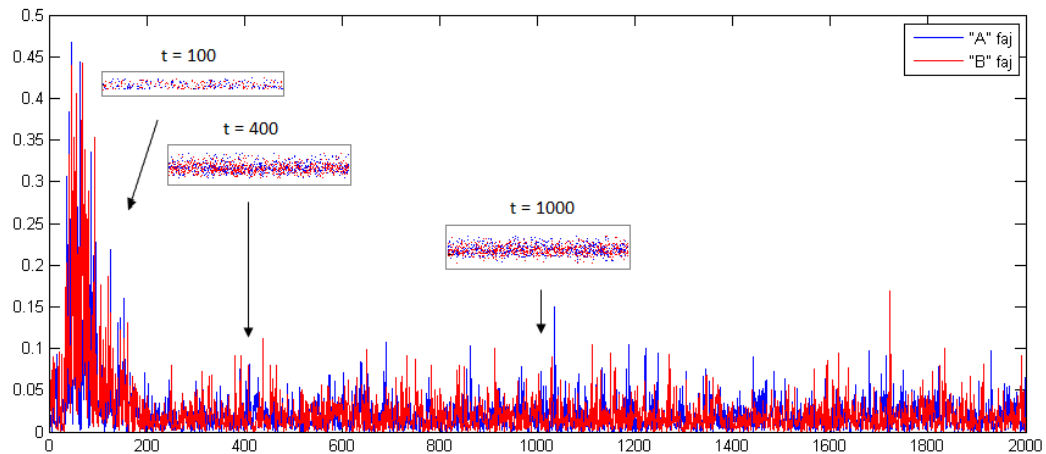
6.3. A mozgás korrelációja kevert és szegregált esetben

A továbbiakban szintén két fajból álló populációk esetén vizsgáltam a fajok mozgásának korreláltságát. A kapott eredményeket a 6.3.1 és 6.3.2 ábra foglalja össze. A 6.3.1 ábránál olyan paraméterezéssel dolgoztam, mely hatására a szimuláció végére szegregálódott a populáció, míg a 6.3.2 ábránál kevert populáció volt megfigyelhető a szimuláció teljes ideje alatt. Mindkét esetben látható, hogy a legnagyobb korreláltságot kezdetben – az első pár száz lépés alatt, amíg még a populáció mérete is változik – figyelhetjük meg. Szegregáció esetén, amikor már a populáció mérete nem növekszik (ez nagyjából a 200. lépéstől igaz), jelentősen visszaesik a korreláció mértéke. Később, az 1000. lépés környékén egy újabb csökkenést figyelhetünk meg a korreláció értékében, innentől a két faj szegregálódik, már nincsen szükségük a korrelált mozgásra. Az eredmények logikusak, hiszen a fajok, amíg el nem jutnak a számukra legkényelmesebb, egyensúlyi állapotukba, korreláltabban kell, hogy mozogjanak.

A kevert esetben (6.3.2 ábra) szintén a 200. lépés környékére érte el a populáció mérete a stacionárius értéket, ekkor ismét egy határozott csökkenést láthatunk a korreláció értékében. Ezt követően azonban nagyjából azonos értéken mozog mindkét faj esetén a mozgás korrelációs értéke, hiszen a populáció kinézete innentől nem változik jelentősen, végig kevert marad. A kevert populációnál megfigyelhető eredmények is megfelelnek az előzetes elvárásainknak, hiszen ez esetben is addig szükséges az egyedeknek a korreláltabb mozgás fenntartása, amíg el nem jutnak az egyensúlyi állapotba, vagyis amíg ki



6.3.1. ábra: Mozgás korrelációs értékének változása két fajból álló, szegregált populációban a lépésszám függvényében.



6.3.2. ábra: Mozgás korrelációs értékének változása két fajból álló, kevert populációban a lépésszám függvényében.

nem alakulnak a megfelelő távolságok az egyedek között.

Az, hogy még a szegregálódó populáció esetén sem figyelhetünk meg igazán magas korrelációs értékeket elsőre meglepőnek tűnhet, ám mivel a modellben a teljes populációnak továbbra is egy előre felé irányuló mozgást kell mutatni annak érdekében, hogy a még kiaknázatlan tápanyagforrások felé tudjanak elmozdulni, ez magyarázható. Ez a tényező szükségszerűen befolyásolja az egyedek mozgási irányát.

6.4. Konklúziók

A Lennard-Jones és Weeks-Chandler-Andersen potenciálok bevezetésével sikerült a korábbi eredményekhez hasonló populációs mintázatokat megfigyelni, mely eredmény igazolja, hogy az így létrehozott modell szintén alkalmas a quorum sensing jelenségének leírására. A potenciálok bevezetése lehetőséget nyújtott arra, hogy a korábban az egyedek belső állapotának függvényében kialakuló mintázatokat gyakorlatilag explicit módon, mint kívánt kimenet megadhassuk a rendszerben. Ez néhány esetben előnyös lehet, ám amikor azt szeretnénk vizsgálni, hogy bizonyos bakteriális tulajdonságoknak milyen hatása van a kialakuló populációra, ami általában a bioinformatikai szimulációk mozgatórugója nem feltétlenül ez a legmegfelelőbb megoldás. Továbbá, mint korábban említettem, az így épített modell futási ideje jelentősen megnőtt a korábbiakhoz képest. A fenti okok miatt egyelőre az eredeti, véletlenszerű mozgással implementált modellel dolgozunk tovább, de minden bizonnyal a most felírt rendszer segítségével is alkalmunk lesz még a későbbiek során néhány releváns kérdés megválaszolására.

7. fejezet

Stabilis mutációk megjelenése a kolóniákban

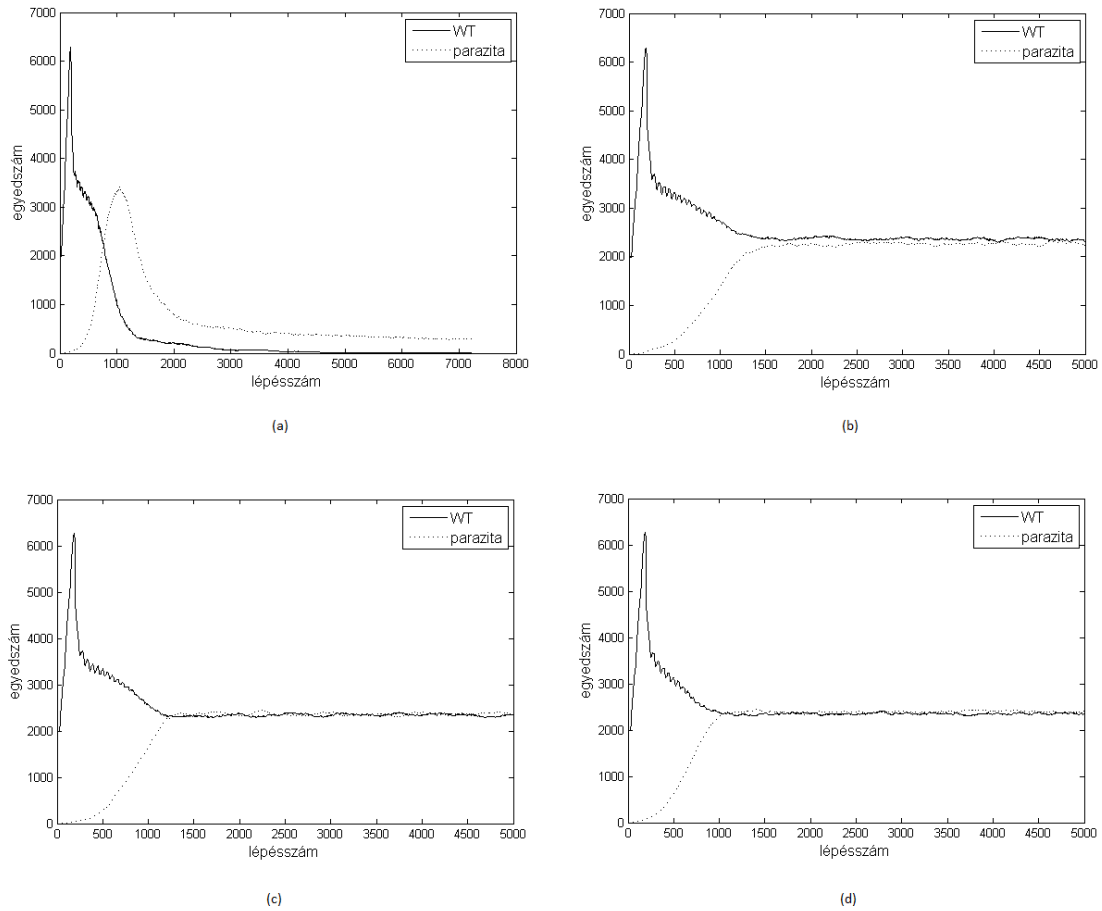
Ahogy a korábbi fejezetek során is említésre került, a quorum érzékelést deléciós mutánsokkal szokták tanulmányozni. Ezek a mutációk azonban nem tekinthetők stabilisnak biológiai értelemben. Maynard Smith klasszikus definíciója szerint egy mutáció akkor stabilis biológiai értelemben, ha megél a vad típusú populációban [84], amit úgy is fogalmazhatunk, hogy a mutáció invazív a vad típussal szemben, képes annak kolóniáinak meghódítására. A baktériumok azonban társas lények, melyeknek vannak magányos (solitary) és szociális fázisai. A mutáns tehát akkor stabilis, ha meg tud élni egyedül is. Ez tehát egy újabb feltétel a klasszikus definícióhoz képest. Nyilvánvaló, hogy a deléciós mutánsok nem jól tesznek eleget ezeknek a feltételeknek. Az SB mutánsok invazívak a vad típussal de a kolónia összeomlása – a vad típusú egyedek kiszorítása – után visszakerülnek az alapállapotba. Úgy is fogalmazhatunk tehát, hogy az SB mutánsok nem hatásos paraziták. Az SN stabilisabb, mert a vad típussal együtt képes stabilis kolóniát kialakítani, de önmagában természetesen ez a típus is életképtelen. Kérdés, hogy tudunk-e olyan parazitákat tervezni, amelyek a) önmagukban megélnek, és b) a vad típussal együtt stabilis közösséget alkotnak. A természetben ugyanis gyakori az olyan mutációk megjelenése, mely eredményeként a mutálódott, parazita faj nem csak rövidtávon képes előnyös pozícióba kerülni a vad típusú egyedekkel szemben, hanem képes olyan egyensúlyi, rajzó populációt kialakítani, melyben mindketten részt tudnak venni.

A paraziták modellezéséhez feltételeztem, hogy a potenciális parazita rendelkezik olyan jelérzékelővel, amely fogni képes más fajok jeleit. Ez nem elvont fikció, a Gram-negatív baktériumok nagyon sok faja rendelkezik olyan érzékelővel, amelynek jelét nem képes szintetizálni. Az ilyen „szóló érzékelő gének” száma nagyobb, mint a quorum érzékelésben résztvevő géneké, és a gyakorlatban is kimérték, hogy a baktériumok más fajok génjeire reagálnak [85]. Itt meg kell jegyezni, hogy az SN mutánsok tulajdonképpen az ilyen szóló érzékelővel rendelkező baktériumok modelljeinek is tekinthetők.

7.1. Parazitizmus bevezetése a modellrendszerben

Egy egyszerű metafora szerint az a parazita hatásos, amelyik „önkontrollal” rendelkezik, tehát észreveszi, ha az általa kizsákmányolt faj már kezd kipusztulni. Ezt a tulajdonságot a modellünkben többféleképpen is meg tudjuk jeleníteni. A következőkben négy modellt vizsgáltam a szimulációk során, ezek közül egyik egy önkontroll nélküli parazita volt, három modell pedig az önkontroll különböző variációit valósította meg.

- a) Kontrollként először létrehoztam egy olyan parazitát, amely nem rendelkezik „önkontrollal”. Olyan egyedeket hoztam létre, melyek ugyan érzékelik a vad típusú egyedek által termelt jelet, illetve faktort, de egyiket sem termelik. Az így kialakított modell hasonlít az SB egyedekre, de annyiban eltér tőlük, hogy egyáltalán nem termel jelet, még az alapállapotban sem. Így az általa felhalmozott energiatöbblet még több is, mint amit korábban az SB esetében megfigyeltünk. A kialakuló populációban az SB-hez hasonlóan a parazita fajok gyors elszaporodását, majd a társadalom összeomlását tapasztaltam (7.1.1/a ábra).
- b) Ez a parazita-típus csak akkor kapcsol aktivált állapotba, ha a vad típusból elegendő egyed van jelen, különben inaktív („önkontrollt gyakorol”, visszamegy az alapállapotba). Ezt úgy oldhatjuk meg, hogy a mutáns a vad típus jelanyagának csak egy magasabb koncentrációjánál kapcsol be, a jelkoncentráció ugyanis arányos a vad típus számával. A 7.1.1/b ábra szerint ez a típus már képes egyensúlyi populáció létrehozására. Megjegyzendő, hogy az egyensúlyi populációban a két faj arányát a parazita jelküszöbe („önkontroll szintje”) variálásával lehet beállítani, itt olyan küszöböt választottam, hogy a fajok aránya pontosan 1:1 legyen, ehhez a parazita faj jelszintjét a WT-ének 4, 2-szeresének választottam.
- c) Ez a parazita-típus érzékeli a kooperáció intenzitását, és csak akkor kapcsol be, ha a kooperáció elég magas szintű. Ezt a modellben úgy oldhatjuk meg, hogy a mutáns a kooperációs közjavak, azaz a faktor szintjére reagál egy a vad típusénál magasabb küszöbértéknél, az alatt inaktív marad (vagyis „önkontrollt gyakorol”). A 7.1.1/c ábra szerint ez a típus is képes egyensúlyi populáció létrehozására. A fajok aránya itt a faktor-érzékelés küszöbével állítható be, az ábrán megfigyelhető egyensúlyi populáció kialakításához a parazita magasabb faktorküszöbe 2, 3-szorosa volt a WT-ének.
- d) Ez a parazita-típus saját sejtjeinek számát érzékeli, tehát van egy külön jele, amely ha elér egy küszöbértéket, a parazita inaktiválódik. Ez tehát egy külön jelrendszert tételez fel, amely látszólag bonyolult feltétel, de nem szabad elfelednünk, hogy a természetben ismertek (alapvetőek) az olyan szabályzórendszerek, amelyek a túl-növekedést gátolják. A 7.1.1/d ábra szerint ez a típus is képes egyensúlyi populáció



7.1.1. ábra: Vad típus és különböző típusú paraziták együttélése. A vad típus és önkontrollal nem rendelkező parazita faj együttélése összeomláshoz vezet (a); a vad típus és egy magasabb jelszintre reagáló parazita faj együttélése stabilis (b); a vad típus és egy magasabb faktor szintre reagáló parazita faj együttélése stabilis (c), a vad típus és saját növekedését kontrolláló parazita együttélése stabilis.

létrehozására. A fajok aránya itt a parazita saját, a túlnövekedést jelző negatív szabályzó jel érzékelésének küszöbével állítható be, melyet 2, 7-szeresnek választottam a WT-hez képest.

A szimulációkat a korábban ismertetett (2). fejezet) nyílt térben végeztem el, és mindig a fajok invazivitását vizsgáltam, mely során kezdetben 4 mutáns és 1996 vad típusú egyed helyezkedett el a táptalajon, a paraziták a kezdeti cellák közül a legfelsőben, koncentráltan voltak megtalálhatóak. Ezt a kezdeti elrendezést azért választottam, mert ez volt az a legkisebb egyedszámú eset, amikor az alap parazita minden esetben fel tudott nőni a kísérletek során. Az invazivitást a paraziták esetén ugyanazon beállítások mellett több kísérlet végzésével vizsgáltam, a 7.1.1 ábrán minden esetben ezek átlaga látható.

A 7.1 táblázat a fent ismertetett módon kialakított mutációkat egyedül, illetve vad típussal való versenyztetés, valamint invazivitás közben vizsgálja, az ezek során kapott

7.1. táblázat: Kialakuló mintázatok a paraziták szimulációja során.¹

Parazita faj-tája	Parazita egyedül	Versengés WT-vel ²	Invazivitás WT-vel ³
Parazita	kis egyedszám	összeomlás	összeomlás
Parazita, jel+	kis egyedszám	rajzás, egyensúly	rajzás, egyensúly
Parazita, faktor+	kis egyedszám	rajzás, egyensúly	rajzás, egyensúly
Parazita, 2. jel	kis egyedszám	rajzás, egyensúly	rajzás, egyensúly

¹ „jel+” és „faktor+” a magasabb jel-, illetve faktorszintre válaszoló egyedeket, a „2. jel” pedig a saját jellel kommunikáló parazitákat jelöli, melyek kikapcsolnak, ha bizonyos populációs méretet érnek el.

² kezdeti 50-50%-os eloszlás a két faj esetén

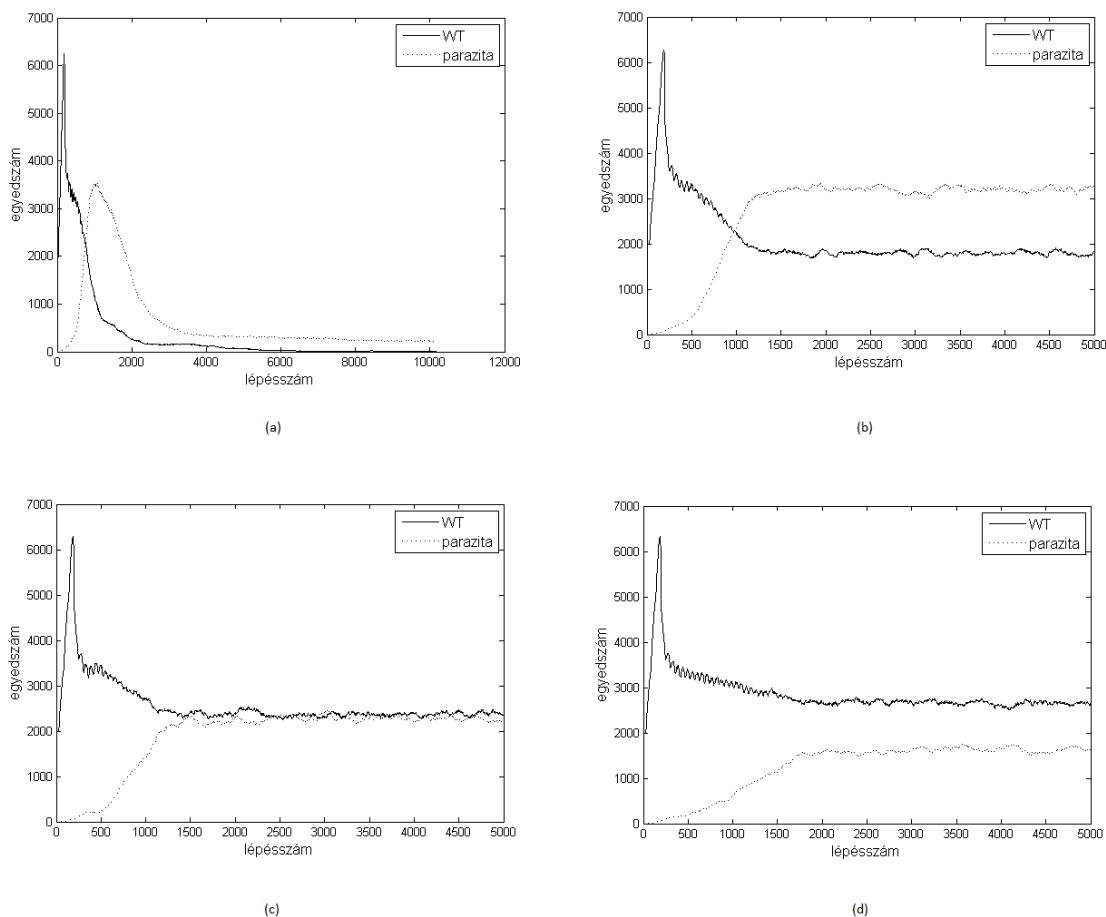
³ kezdeti 4 mutáns, 1996 vad típusú egyed

eredményeket mutatja be. Versengés esetén a korábbiakhoz hasonlóan a kezdeti populációban egyenlő arányban voltak jelen a mutáns és vad típusú egyedek, míg az invazivitás vizsgálata során a fent ismertetett kezdeti 4 mutáns, 1996 vad típus eloszlást használtam. Az eredmények azt mutatták, hogy egyedül egyik mutáció sem képes nagy, rajzó populációt kialakítani, de kis számban megélnek. Az alap faj WT-vel versenyeztetve összeomlást okoz, a magasabb jel-, illetve faktorszinttel rendelkező, illetve saját jellel kommunikáló egyedek viszont képesek rajzó egyensúlyi populáció kialakítására, melyben egyik fél sem hal ki.

A fenti módszerek segítségével tehát sikerült olyan fajokat, mutációkat létrehoznom, melyek ugyan önmagukban csak meglehetősen kis egyedszámmal, de képesek megélni, vad típusú egyedek mellett, azokkal közös kolóniában pedig képesek kihasználni a másik faj jel-, illetve faktor termelését, ezáltal el tudnak szaporodni, de mindig csak olyan mértékben, mellyel nem szorítják ki a számukra előnyös együttélés másik résztvevő fajtát, vagyis a vad típust.

Az így megtervezett mutánsok viselkedése hasonlít az SN típusú, laboratóriumban és modellezéssel egyaránt tanulmányozott egyedekéhez. Az "önkontroll" bevezetésére használt küszöbök beállításával a populációk aránya, tehát a „kizsákmányolás szintje” szabályozható. Erre mutat be egy példát a 7.1.2 ábra a magasabb jelszintre reagáló parazita esetén. A küszöb különböző értékei esetén változtathatjuk, melyik faj mekkora arányban képviseli magát a kialakuló végpopulációban.

Ebben a fejezetben tehát a hatásos, az áldozatukkal stabilisan együtt élni képes parazita modellek tervezésére mutattam be példákat. Az ilyen paraziták tervezésére részint a quorum érzékelés saját tulajdonságait (jelek, faktorok érzékelése), részint a parazita saját növekedését szabályozó fiktív jelrendszert használtam fel. Az eredmények minden esetben azt mutatták, hogy a parazitának egy bizonyos populációs küszöb alatt képesnek kell lennie a vad típusnál gyorsabb növekedésre, viszont a küszöb felett a vad típusnak kell életképebben viselkednie. A fenti modellkísérletek érdekessége az, hogy e feltételeket



7.1.2. ábra: Vad típusú és magasabb jelszinttel rendelkező parazita együttélése; a parazita jelküszöbe a vad típusénak 1,5-szeres (a), 3-szoros (b), 4,2-szeres (c) és 5-szörös (d) volt a szimulációk során.

olyan eszközökkel sikerül elérni, amelyek a természetben is adóttak, ezért szimulációink eredményei biológiai kísérletekkel is tesztelhetők.

8. fejezet

Összefoglalás

A következő fejezetben a disszertáció alapján megfogalmazható téziseket, új tudományos eredményeket, valamint azok alkalmazhatósági területeit tekintem át röviden.

8.1. Új tudományos eredmények

1. tézis: Módszertani fejlesztések.

A szerző kapcsolódó publikációi: [1, 2]

Munkám során újszerű szimulációs elveket kellett alkalmaznom, amelyekhez a meglévő ágens-alapú modellt módosítani kellett, és alkalmassá kellett tenni nagyszámú szimulációs kísérlet parallel kivitelezésére, és az eredmények egyszerű bemutatására.

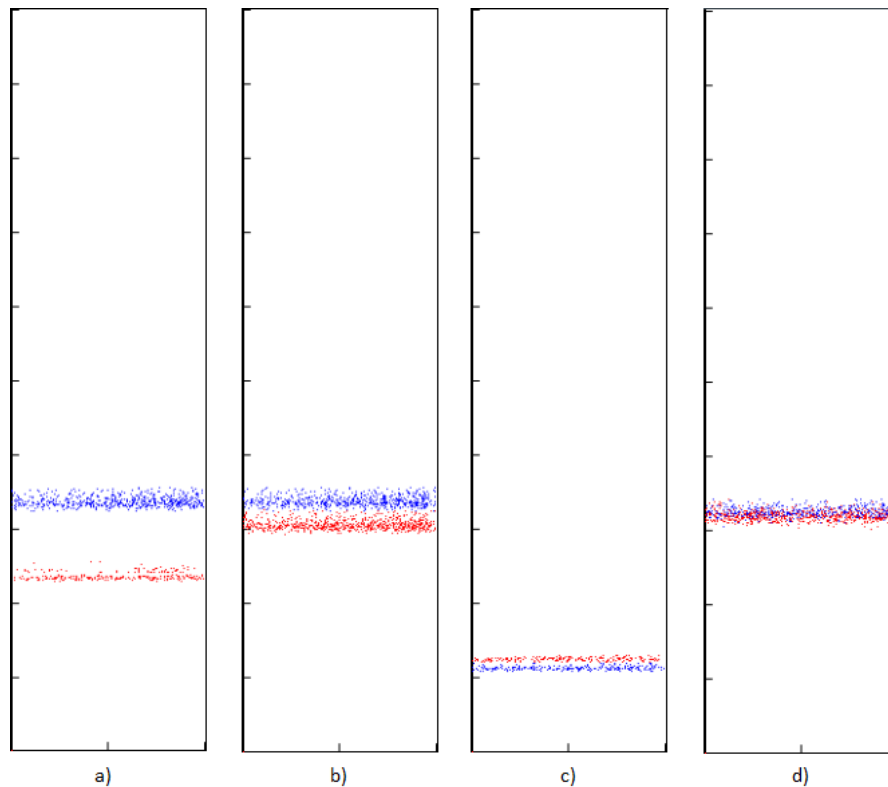
1.1. Több kémiai anyaggal kommunikáló és kooperáló baktérium modellt fejlesztettem ki.

Csoportunk eredeti modell-rendszere homogén baktérium kolóniák növekedését szimulálta, és a baktérium modellek (ágensek) egyetlen kémiai jellel kommunikáltak, és egy másik kémiai anyaggal, faktorra kooperáltak. Ezt a rendszert fejlesztettük tovább oly módon, hogy az több jelet és több faktort is tudjon tartalmazni, ezáltal lehetővé vált az „egymás nyelvét értő” baktériumfajok versenyének modellezése.

1.2. A nagyszámú szimulációs eredmények kiértékelésére vizualizációs és numerikus módszereket vezettem be.

A több-jelű kísérleti rendszerek teljes paraméterterének kiértékeléséhez nagyon nagyszámú szimulációt kellett elvégezni. Annak érdekében, hogy az így kapott eredményeket fel tudjam dolgozni, egyrészt numerikus módszereket vezettem be a populációk térbeli szétválásának, illetve időbeli stabilitásának jellemzésére, másrészt egy ábrázolási megoldást dolgoztam ki, mely során többdimenziós hőtérképeket alkalmaztam.

1.3. Megvalósítottam a baktériumok térbeli versengésének fizikai potenciálfüggvények felhasználásával történő ábrázolását.



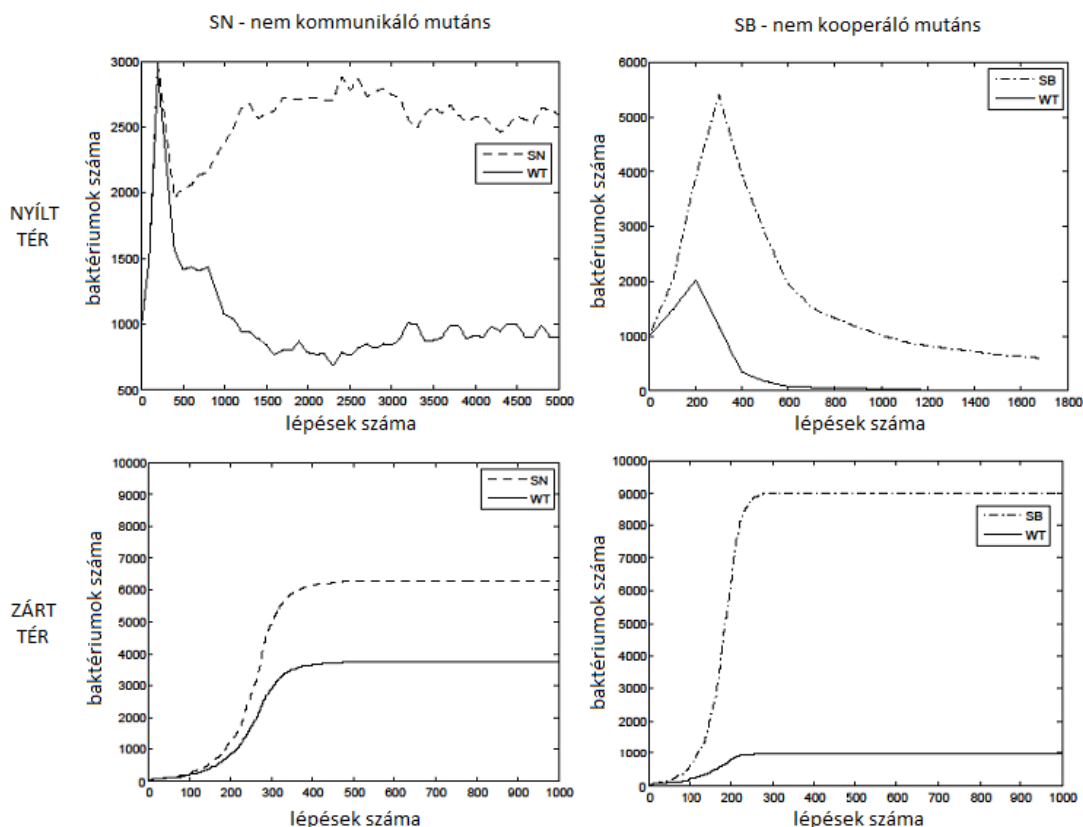
8.1.1. ábra: Különbféle paraméterezésű LJ és WCA potenciálok esetén megfigyelhető végpopulációs elrendeződések a táptalajon.

Eredeti modellrendszerünkben az ágensek véletlenszerűen mozogtak, és szaporodásuknál a számuk egy adott térrészben maximálva volt. Bevezettem egy modellt, ahol a baktérium ágensek mozgását a fizikából kölcsönzött potenciálfüggvényekkel írjuk le, oly módon hogy az azonos fajok között a Lennard-Jones (LJ) potenciállal leírható vonzó-taszító kölcsönhatások, a különböző fajok között a Weeks-Chandler-Andersen (WCA) potenciálhoz hasonló taszító- és semleges kölcsönhatások lépnek fel. Ez a rendszer realistább az előzőnél, de a főbb kísérleti eredmények (homogén populáció, szegregáció, ld. 8.1.1 ábra) a kettőben azonosak.

2. tézis: Kimutattam, hogy a baktérium populációk versengése más eredményeket mutat nyílt és zárt térben, ami megmagyarázza a biológiai szakirodalomban jelentkező látszólag ellentétes kísérleti következtetéseket.

A szerző kapcsolódó publikációja: [3]

A quorum-érzékelést hagyományosan deléciós – SN és SB – mutánsok segítségével szokták vizsgálni, melyekről részletesebben a bevezetésben esik szó. Ezek a mutánsok a természetben nem, vagy csak ritkán találhatók meg. Lombik-kísérleteknél viszont mindkét mutáns típust életképesebbnek szokták találni, mint az eredeti, vad típusú baktériumokat, ugyanakkor nyílt felületen, agar lemezen vizsgálva az SN típus stabilisan együttműködik a vad típussal, az SB típus hatására viszont összeomlik a populáció, miután

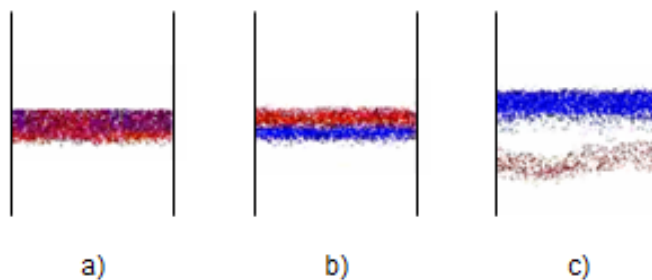


8.1.2. ábra: Vad típusú és mutáns egyedek versengésének eredményei nyílt (fent) és zárt (lent) térben; a kísérletek során a két faj – WT (folytonos görbe) és SN (szaggatott görbe), vagy SB (pont-vonal) mutáns – mindig azonos arányban volt megtalálható a kezdeti populációban; az ábrákon a populációk méretének alakulása látható a lépésszám függvényében.

a WT sejtek kiszorulnak. Ágens-alapú szimulációval viszont ki lehetett mutatni, hogy a különbségek a nyílt és zárt terek eltéréseinek köszönhetőek. Ez azzal magyarázható, hogy egy zárt tér, pl. egy lombik vagy kémcső telíthető a jelanyaggal és a kooperációs anyaggal (faktorral), és ezután már nincs szükség quorum érzékelésre. Így a lombik kísérletek jól kevert rázatott kultúráiban a természetben életképtelen mutánsok a laborkísérletekben is jobban tudnak nőni, mint a vad típus. A négyféle versengés eredményei a 8.1.2 ábrán figyelhetők meg.

3. tézis: Közös kémiai jelekkel kommunikáló és kooperáló ágensekkel vizsgáltam az egymás nyelvét kölcsönösen értő baktériumok populációinak versengését. Azt találtam, hogy a szimulációs paraméterter nagy részében létezik stabil kevert populáció, a jelek és kooperációs anyagok megosztása tehát segíti a fajok együttélését.

A szerző kapcsolódó publikációja: [2]



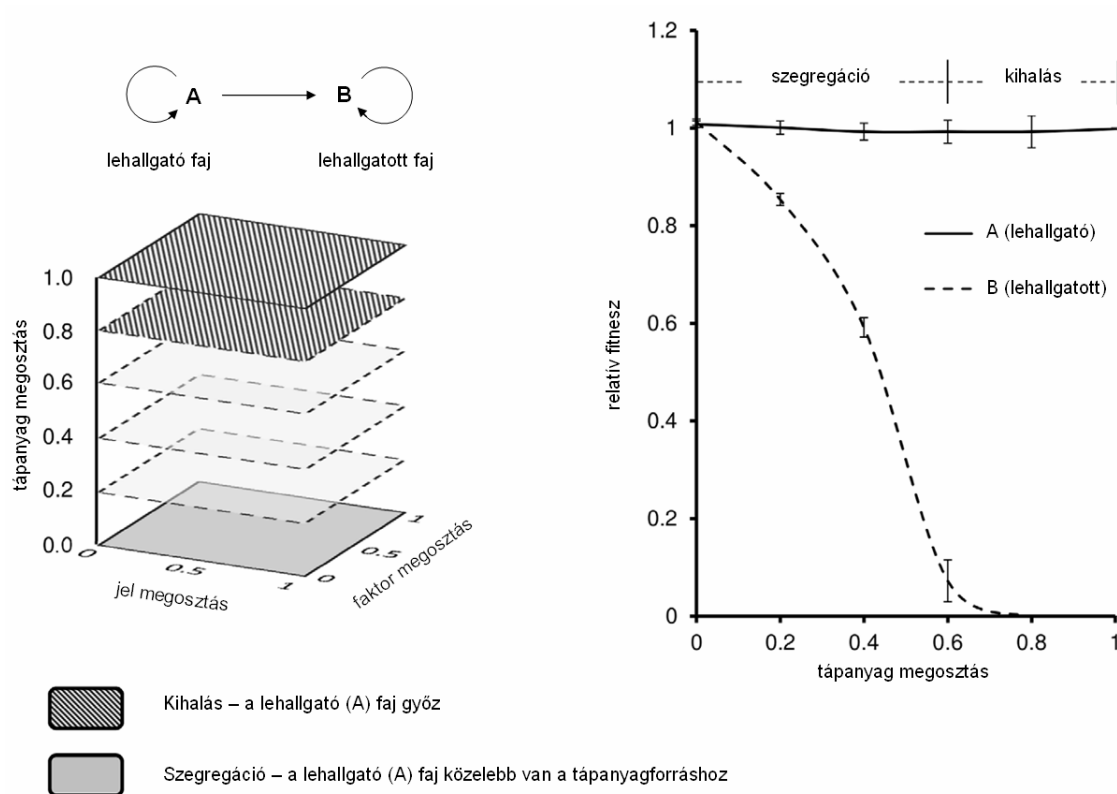
8.1.3. ábra: Két fajból álló populációk versengése során kialakuló mintázatok; a) kevert populáció, b) szegregáció, c) egyik faj győzelme.

A baktériumközösségek egyik érdekes jelensége, hogy egyes fajok részben tudnak reagálni a más fajok által kibocsátott jelekre, és fel tudják használni a más fajok által termelt kooperációs anyagokat is, mint amilyenek a kibocsátott enzimek, fémkötő vegyületek, stb. A elméleti biológiai elvárás szerint két versengő faj közül csak egy marad életben (Gause-féle kompetitív kizorítás elve). A szimulációk során azt figyeltem meg, hogy a kommunikáló és kooperáló fajok között többféle stabilis közösség is kialakulhat, az egyiknél a sejtek keverten helyezkednek el, a másikon szegregáció figyelhető meg. A paraméterter nagy részében léteznek ezek a stabilis populációk, viszont az esetek egy részénél csakugyan kompetitív kizorítás következik be. A kialakuló mintázatokról egy-egy példa a 8.1.3 ábrán látható. Az eredményekből arra következtethetünk, hogy a kommunikáció és kooperáció szerepet játszhat a természetben megfigyelhető közösségek stabilizálásában.

4. tézis: Megvizsgáltam a más fajok jeleire egyoldalúan reagálni tudó baktérium-modellek viselkedését, és azt találtam, hogy ezek mindig életképesebbek, mint az általuk lehallgatott fajok.

A szerző kapcsolódó publikációja: [2]

A természetben sok baktérium rendelkezik olyan jelérzékelő fehérjével (pl. LuxR fehérje-analóggal), amely minden valószínűség szerint külső jelekre reagál. Biokémiai vizsgálatok szerint ezek az ún. szülő luxR fehérjék más fajok jeleit is érzékelik, de nehéz olyan kísérletet tervezni, ahol ennek a jelenségnek a konkrét haszna bizonyítható lenne. A modellezési eredményeim azt valószínűsítik, hogy a más fajok jeleit egyoldalúan érzékelni, „lehallgatni” képes modellek minden körülmények között életképesebbek, mint az általuk lehallgatott fajok. Ez tehát potenciálisan magyarázza a szülő *luxR* gének gyakori előfordulását a természetben, hiszen ezek révén egy faj meg tudja találni az ilyen jelet termelő közösséget, és abban el is tud szaporodni. A 8.1.4 ábra az aszimmetrikus lehallgatás szimulációja során kapott eredményeket mutatja.



8.1.4. ábra: „B” faj lehallgatja az „A” faj QS rendszerét (jel és faktor), illetve tápanyagát. Bal oldalon a teljes paraméterterületén látható, mikor történt kihalás, mikor szelegregáció (mindig a lehallgató faj győzelméről beszélhetünk); jobb oldalon a két faj relatív fitnessének alakulását látjuk a tápanyagban való áthallás függvényében.

8.1. táblázat: Kialakuló mintázatok a paraziták szimulációja során.¹

Parazita faj-tája	Parazita egyedül	Versengés WT-vel ²	Invazivitás WT-vel ³
Parazita	kis egyedszám	összeomlás	összeomlás
Parazita, jel+	kis egyedszám	rajzás, egyensúly	rajzás, egyensúly
Parazita, faktor+	kis egyedszám	rajzás, egyensúly	rajzás, egyensúly
Parazita, 2. jel	kis egyedszám	rajzás, egyensúly	rajzás, egyensúly

¹ „jel+” és „faktor+” a magasabb jel-, illetve faktorszintre válaszoló egyedet jelöli, a „2. jel” pedig a saját jellel kommunikáló parazitákat jelöli, melyek kikapcsolnak, ha bizonyos populációs méretet érnek el.

² kezdeti 50-50%-os eloszlás a két faj esetén

³ kezdeti 4 mutáns, 1996 vad típusú egyed

5. tézis: Kimutattam, hogy a quorum-érzékelés paramétereinek beállításával kialakíthatók olyan szituációk, amikor egy faj tartósan élőszködik egy másik faj populációján, de azt nem dönti össze.

A természetben azok a fajok tudnak hatékonyan élőszködni más fajokon, amelyek képesek hatékonyan elterjedni, de az áldozatukat nem pusztítják el. A quorum-érzékelésnél tanulmányozott deléciós mutánsok – különösképpen az SB egyedek – nem tekinthetők optimális parazitának, ugyanis szabadon nem élnek meg, ugyanakkor a vad típusú populációt néha összeomlasztják. A quorum-érzékelő modellek numerikus paramétereit megváltoztatva ugyanakkor előállíthatók olyan modellek, amelyek érzékelik, ha az általuk kihasznált populáció kommunikációjának vagy kooperációjának mértéke egy adott szint alá csökken, így nem döntenek össze a közösséget. Mivel a természetben megfigyelt quorum-érzékelő rendszerek specifikitása széles skálán mozog, ez a megfigyelés potenciálisan magyarázza, miért lehetséges az időben is stabilis közösségek kialakulása.

8.2. Az eredmények alkalmazási területei

Munkám során tehát a bakteriális kommunikációt, valamint a különféle baktérium mutációkat vizsgáltam szimulációs eszközökkel. Mint minden modell esetén, a célunk, hogy a leírt rendszer viselkedését minél pontosabban megértsük. A felállított modell segítségével a természetes körülmények között megfigyelhető baktériumok viselkedésére, az általuk kialakított kolóniák elrendeződéseire adhatunk magyarázatot.

A nyílt és zárt terek összehasonlításából származó eredmények segítségével megérthetjük például, hogyan lehetséges, hogy bizonyos, a természetben életképtelennek mutatkozó fajok laboratóriumi körülmények között olykor mégis invazívak tudnak lenni.

Több faj kommunikációs anyagainak egymással való megosztása lehetőséget ad annak leírására, hogyan tudják a stabilan együtt élő közösségek egyedei egymást segíteni, illetve az egymás nyersanyagian élőszködő kolóniák mikor képesek egymás mellett megélni. A megfigyelt eredmények magyarázatot adnak arra, miért érdemes az egyedeknek kevésbé specifikus érzékelő rendszerrel rendelkezniük, ez milyen előnyöket tud nyújtani nekik.

Mindemellett számos olyan elv fogalmazható meg a modell segítségével, mely nem használ ki semmiféle baktérium-specifikus megfontolást, így azzal analógiában más olyan struktúrák, rendszerek jellemzése is elképzelhető, melyek hasonló elveken alapulva működnek.

A. Függelék

A.1. táblázat: A program futása során használt paraméterek értékei a nyílt modellben.

paraméter neve	paraméter egy tipikus értéke
maximális lépésszám	10 000
egyedek maximális száma cellánként	10
médium mérete (x)	250
médium mérete (y)	2 000
cella mérete (x)	50
cella mérete (y)	400
kezdeti jel és faktor koncentráció cellánként	0
kezdeti tápanyag koncentráció cellánként	500
fajok száma	2
állapotok száma	4
kezdeti egyedszám cellánként	10
osztódás utáni energiaszint	0,2
tápanyag diffúziós állandója	0,03
jel diffúziós állandója	0,02
faktor diffúziós állandója	0,05
jel bomlási állandója	0,001
faktor bomlási állandója	0,0001
jel és faktor küszöbértéke	10
osztódási energiaszint	12
metabolikus energia	0,1
baktérium sebessége	1,5 / 5
baktérium tápanyagfelvétele	0,3 / 0,5
jeltermelés mértéke	0,1 / 0,5
faktortermelés mértéke	0,1
jeltermelésre fordított energia	0,005 / 0,025
faktortermelésre fordított energia	0,15

A.2. táblázat: A zárt modell felépítését leíró paraméterek.

paraméter neve	paraméter egy tipikus értéke
maximális lépésszám	1 000
egyedek maximális száma cellánként	25 000
médium mérete (x)	1
médium mérete (y)	1
cella mérete (x)	1
cella mérete (y)	1

A.3. táblázat: A potenciálokkal megvalósított modell felépítését leíró paraméterek.

paraméter neve	paraméter egy tipikus értéke
maximális lépésszám	5 000
egyedek maximális száma cellánként	6
médium mérete (x)	20
médium mérete (y)	2000
cella mérete (x)	4
cella mérete (y)	500

A szerző publikációi

- [1] **D. Bihary**, Á. Kerényi, Z. Gelencsér, S. Netotea, A. Kertész-Farkas, V. Venturi, and S. Pongor, „Simulation of communication and cooperation in multispecies bacterial communities with an agent based model,” *Scalable Computing: Practice and Experience*, vol. Volume 13, no. 1, pp. 21–28, 2012.
- [2] Á. Kerényi, **D. Bihary**, V. Venturi, and S. Pongor, „Stability of multispecies bacterial communities: signaling networks may stabilize microbiomes,” *PloS one*, vol. 8, p. e57947, Jan. 2013.
- [3] **D. Bihary**, M. Tóth, Á. Kerényi, V. Venturi, and S. Pongor, „Modeling bacterial quorum sensing in open and closed environments: potential discrepancies between agar plate and culture flask experiments,” *Journal of molecular modeling*, vol. 20, p. 2248, July 2014.
- [4] V. Venturi, A. Kerenyi, B. Reiz, **D. Bihary**, and S. Pongor, „Locality versus globality in bacterial signalling: can local communication stabilize bacterial communities?,” *Biology Direct*, vol. 5, p. 30, 2010.

Irodalomjegyzék

- [1] P. E. Larsen, S. M. Gibbons, and J. A. Gilbert, „Modeling microbial community structure and functional diversity across time and space,” *FEMS Microbiol Lett*, vol. 332, no. 2, pp. 91–98, 2012.
- [2] G. H. Wadhams and J. P. Armitage, „Making sense of it all: bacterial chemotaxis,” *Nature reviews. Molecular cell biology*, vol. 5, pp. 1024–1037, Dec. 2004.
- [3] V. Venturi and S. Subramoni, „Future research trends in the major chemical language of bacteria,” *HFSP J*, vol. 3, no. 2, pp. 105–116, 2009.
- [4] M. B. Miller and B. L. Bassler, „Quorum sensing in bacteria,” *Annu Rev Microbiol*, vol. 55, pp. 165–199, 2001.
- [5] C. Fuqua and E. P. Greenberg, „Listening in on bacteria: acyl-homoserine lactone signalling,” *Nat Rev Mol Cell Biol*, vol. 3, no. 9, pp. 685–695, 2002.
- [6] C. Fuqua and M. R. Parsek, „Molecular Mechanisms of Quorum Sensing,” 2002.
- [7] W. C. Fuqua and S. C. Winans, „A LuxR-LuxI type regulatory system activates *Agrobacterium* Ti plasmid conjugal transfer in the presence of a plant tumor metabolite,” *J Bacteriol*, vol. 176, no. 10, pp. 2796–2806, 1994.
- [8] R. J. Redfield, „Is quorum sensing a side effect of diffusion sensing?,” *Trends in Microbiology*, vol. 10, no. 8, 2002.
- [9] B. A. Hense, C. Kuttler, J. Müller, M. Rothballer, A. Hartmann, and J.-U. Kreft, „Does efficiency sensing unify diffusion and quorum sensing?,” *Nature Reviews Microbiology*, vol. 5, no. 3, 2007.
- [10] C. M. Waters and B. L. Bassler, „Quorum sensing: cell-to-cell communication in bacteria,” *Annu Rev Cell Dev Biol*, vol. 21, pp. 319–346, 2005.
- [11] A. R. Pacheco and V. Sperandio, „Inter-kingdom signaling: chemical language between bacteria and host,” *Curr Opin Microbiol*, vol. 12, no. 2, pp. 192–198, 2009.
- [12] M. A. Mahowald, F. E. Rey, H. Seedorf, P. J. Turnbaugh, R. S. Fulton, A. Wolam, N. Shah, C. Wang, V. Magrini, R. K. Wilson, B. L. Cantarel, P. M. Coutinho,

- B. Henrissat, L. W. Crock, A. Russell, N. C. Verberkmoes, R. L. Hettich, and J. I. Gordon, „Characterizing a model human gut microbiota composed of members of its two dominant bacterial phyla.,” *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 106, no. 14, pp. 5859–5864, 2009.
- [13] L. Steindler, I. Bertani, L. De Sordi, S. Schwager, L. Eberl, and V. Venturi, „LasI/R and RhlI/R quorum sensing in a strain of *Pseudomonas aeruginosa* beneficial to plants,” *Appl Environ Microbiol*, vol. 75, no. 15, pp. 5131–5140, 2009.
- [14] B. L. Bassler, „Small talk. Cell-to-cell communication in bacteria,” *Cell*, vol. 109, no. 4, pp. 421–4., 2002.
- [15] A. B. Goryachev, „Understanding bacterial cell-cell communication with computational modeling,” *Chem Rev*, vol. 111, no. 1, pp. 238–250, 2011.
- [16] G. Rampioni, I. Bertani, C. R. Pillai, V. Venturi, E. Zennaro, and L. Leoni, „Functional characterization of the quorum sensing regulator RsaL in the plant-beneficial strain *Pseudomonas putida* WCS358.,” *Applied and environmental microbiology*, vol. 78, pp. 726–34, Feb. 2012.
- [17] M. Mattiuzzo, I. Bertani, S. Ferluga, L. Cabrio, J. Bigirimana, C. Guarnaccia, S. Pongor, H. Maraite, V. Venturi, M. Mattiuzzo, I. Bertani, S. Ferluga, L. Cabrio, C. Guarnaccia, and S. Pongor, „The plant pathogen *Pseudomonas fuscovaginae* contains two conserved quorum sensing systems involved in virulence and negatively regulated by RsaL and the novel regulator RsaM,” *Environ Microbiol*, vol. 13, no. 1, pp. 145–162, 2011.
- [18] V. Venturi, G. Rampioni, S. Pongor, and L. Leoni, „The virtue of temperance: built-in negative regulators of quorum sensing in *Pseudomonas*,” *Molecular Microbiology*, vol. 82, no. 5, pp. 1060–1070, 2011.
- [19] M. R. Parsek and E. P. Greenberg, „Acyl-homoserine lactone quorum sensing in Gram-negative bacteria: A signaling mechanism involved in associations with higher organisms,” *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 97, no. 16, pp. 8789–8793, 2000.
- [20] O. Ciofu, L. F. Mandsberg, T. Bjarnsholt, T. Wassermann, and N. Hoiby, „Genetic adaptation of *Pseudomonas aeruginosa* during chronic lung infection of patients with cystic fibrosis: strong and weak mutators with heterogeneous genetic backgrounds emerge in *mucA* and/or *lasR* mutants,” *Microbiology*, vol. 156, no. Pt 4, pp. 1108–1119, 2010.
- [21] K. Todar, „Online Textbook of Bacteriology.,” 2008.

- [22] C. Fuqua, S. C. Winans, and E. P. Greenberg, „Census and consensus in bacterial ecosystems: the LuxR-LuxI family of quorum-sensing transcriptional regulators,” *Annu. Rev. Microbiol.*, vol. 50, pp. 727–751, 1996.
- [23] Y. Lequette, J. H. Lee, F. Ledgham, A. Lazdunski, and E. P. Greenberg, „A distinct QscR regulon in the *Pseudomonas aeruginosa* quorum-sensing circuit,” *J Bacteriol*, vol. 188, no. 9, pp. 3365–3370, 2006.
- [24] C. Fuqua, „The QscR quorum-sensing regulon of *Pseudomonas aeruginosa*: an orphan claims its identity,” *J Bacteriol*, vol. 188, no. 9, pp. 3169–3171, 2006.
- [25] W. T. Watson, T. D. Minogue, D. L. Val, S. B. von Bodman, and M. E. A. Churchill, „Structural Basis and Specificity of Acyl-Homoserine Lactone Signal Production in Bacterial Quorum Sensing,” *Molecular Cell*, vol. 9, pp. 685–694, Mar. 2002.
- [26] L. Churchill Mair E. A.; Chen, „Structural Basis of Acyl-homoserine Lactone-Dependent Signaling,” *Chemical Reviews*, vol. 111, no. 1, 2011.
- [27] Z. Gelencsér, B. Galbáts, J. F. Gonzalez, K. S. Choudhary, S. Hudaiberdiev, V. Venturi, and S. Pongor, „Chromosomal arrangement of AHL-driven quorum sensing circuits in *Pseudomonas*,” *ISRN Microbiology*, vol. 2012, p. 6, 2012.
- [28] V. Venturi, „Regulation of quorum sensing in *Pseudomonas*,” *FEMS Microbiol Rev*, vol. 30, no. 2, pp. 274–291, 2006.
- [29] M. J. Gambello and B. H. Iglewski, „Cloning and characterization of the *Pseudomonas aeruginosa* lasR gene, a transcriptional activator of elastase expression,” *Journal of bacteriology*, vol. 173, pp. 3000–3009, May 1991.
- [30] M. J. Gambello, S. Kaye, and B. H. Iglewski, „LasR of *Pseudomonas aeruginosa* is a transcriptional activator of the alkaline protease gene (apr) and an enhancer of exotoxin A expression,” *Infection and immunity*, vol. 61, pp. 1180–1184, Apr. 1993.
- [31] M. Schuster, C. P. Lostroh, T. Ogi, and E. P. Greenberg, „Identification, timing, and signal specificity of *Pseudomonas aeruginosa* quorum-controlled genes: a transcriptome analysis,” *J Bacteriol*, vol. 185, no. 7, pp. 2066–2079, 2003.
- [32] D. S. Toder, M. J. Gambello, and B. H. Iglewski, „*Pseudomonas aeruginosa* LasA: a second elastase under the transcriptional control of lasR,” *Molecular microbiology*, vol. 5, pp. 2003–10, Aug. 1991.
- [33] R. S. Smith and B. H. Iglewski, „*P. aeruginosa* quorum-sensing systems and virulence,” *Curr Opin Microbiol*, vol. 6, no. 1, pp. 56–60, 2003.
- [34] S. Netotea, I. Bertani, L. Steindler, A. Kerenyi, V. Venturi, and S. Pongor, „A simple model for the early events of quorum sensing in *Pseudomonas aeruginosa*: modeling

- bacterial swarming as the movement of an "activation zone",” *Biol Direct*, vol. 4, p. 6, 2009.
- [35] K. Kawasaki, A. Mochizuki, M. Matsushita, T. Umeda, and N. Shigesada, „Modeling spatio-temporal patterns generated by *Bacillus subtilis*,” *J Theor Biol*, vol. 188, no. 2, pp. 177–185, 1997.
- [36] S. P. Diggle, A. S. Griffin, G. S. Campbell, and S. A. West, „Cooperation and conflict in quorum-sensing bacterial populations,” *Nature*, vol. 450, no. 7168, pp. 411–414, 2007.
- [37] T. Köhler, A. Buckling, and C. van Delden, „Cooperation and virulence of clinical *Pseudomonas aeruginosa* populations.,” *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 106, pp. 6339–44, Apr. 2009.
- [38] C. Lupp and E. G. Ruby, „*Vibrio fischeri* uses two quorum-sensing systems for the regulation of early and late colonization factors.,” *Journal of bacteriology*, vol. 187, pp. 3620–9, June 2005.
- [39] I. Dogsa, K. S. Choudhary, Z. Marsetic, S. Hudaiberdiev, R. Vera, S. Pongor, and I. Mandic-Mulec, „ComQXPA quorum sensing systems may not be unique to *Bacillus subtilis*: a census in prokaryotic genomes.,” *PloS one*, vol. 9, p. e96122, Jan. 2014.
- [40] M. Okada, I. Sato, S. J. Cho, H. Iwata, T. Nishio, D. Dubnau, and Y. Sakagami, „Structure of the *Bacillus subtilis* quorum-sensing peptide pheromone ComX.,” *Nature chemical biology*, vol. 1, pp. 23–4, June 2005.
- [41] M. Pottathil, A. Jung, and B. A. Lazazzera, „CSF, a species-specific extracellular signaling peptide for communication among strains of *Bacillus subtilis* and *Bacillus mojavensis*.,” *Journal of bacteriology*, vol. 190, pp. 4095–9, June 2008.
- [42] P. Atkins, *Atkins’ Physical Chemistry*. Oxford University Press, 8th ed., 2006.
- [43] J. D. Weeks, „Role of Repulsive Forces in Determining the Equilibrium Structure of Simple Liquids,” *The Journal of Chemical Physics*, vol. 54, no. 12, p. 5237, 1971.
- [44] E. Bonabeau, „Agent-based modeling: methods and techniques for simulating human systems.,” *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 99 Suppl 3, pp. 7280–7, May 2002.
- [45] C. W. Reynolds, „Flocks, herds and schools: a distributed behavioral model,” in *Computer Graphics*, vol. 21, pp. 25–34, ACM, 1987.
- [46] J. V. Neumann, *Theory of Self-Reproducing Automata*, vol. 5. University of Illinois Press, June 1966.

-
- [47] G. B. Ermentrout and L. Edelstein-Keshet, „Cellular automata approaches to biological modeling,” *Journal of theoretical biology*, vol. 160, pp. 97–133, Jan. 1993.
 - [48] K. Krawczyk, W. Dzwinił, and D. A. Yuen, „Nonlinear Development of Bacterial Colony Modeled with Cellular Automata and Agent Objects,” *International Journal of Modern Physics C*, vol. 14, pp. 1385–1404, Dec. 2003.
 - [49] G. Szabó and G. Fáth, „Evolutionary games on graphs,” *Physics Reports*, vol. 446, pp. 97–216, July 2007.
 - [50] T. Czaran, *Spatiotemporal Models of Population and Community Dynamics (Population and Community Biology Series)*. Springer, 1997.
 - [51] H. C. Berg, *Random walks in biology*. New Jersey: Princeton University Press.
 - [52] J. Juhász, K.-F. Attila, D. Szabó, and S. Pongor, „Emergence of collective territorial defense in bacterial communities: horizontal gene transfer can stabilize microbiomes,” *PLoS ONE*, vol. 9(4), 2014.
 - [53] E. Ben-Jacob, I. Cohen, O. Shochet, I. Aranson, H. Levine, and L. Tsimring, „Complex bacterial patterns,” *Nature*, vol. 373, no. 6515, pp. 566–567, 1995.
 - [54] I. Golding, I. Cohen, and E. Ben-Jacob, „Spatio-selection in Expanding Bacterial Colonies,” *Physica A*, 1999.
 - [55] P. Gerlee and A. R. Anderson, „Stability analysis of a hybrid cellular automaton model of cell colony growth,” *Phys Rev E Stat Nonlin Soft Matter Phys*, vol. 75, p. 51911, 2007.
 - [56] K. E. Atkinson, *An Introduction To Numerical Analysis*. John Wiley & Sons, Inc, second edi ed., 1989.
 - [57] S. Mitri, J. B. Xavier, and K. R. Foster, „Social evolution in multispecies biofilms,” *Proc Natl Acad Sci U S A*, vol. 108 Suppl, pp. 10839–10846, 2011.
 - [58] H. A. Orr, „Absolute fitness, relative fitness, and utility,” *Evolution*, vol. 61, no. 12, pp. 2997–3000, 2007.
 - [59] C. D. Nadell, K. R. Foster, and J. B. Xavier, „Emergence of spatial structure in cell groups and the evolution of cooperation,” *PLoS Comput Biol*, vol. 6, no. 3, p. e1000716, 2010.
 - [60] J. Maynard Smith and E. Szathmáry, *The Major Transitions in Evolution*. Oxford, New York, Heidelberg: W.H. Freeman, 1995.
 - [61] G. A. O’Toole, „Microbiology: a resistance switch,” *Nature*, vol. 416, pp. 695–696, 2002.

- [62] G. A. O'Toole and P. S. Stewart, „Biofilms strike back,” *Nat Biotechnol*, vol. 23, pp. 1378–1379, 2005.
- [63] V. Venturi, I. Bertani, A. Kerenyi, S. Netotea, and S. Pongor, „Co-swarming and local collapse: quorum sensing conveys resilience to bacterial communities by localizing cheater mutants in *Pseudomonas aeruginosa*,” *PLoS One*, vol. 5, no. 4, p. e9998, 2010.
- [64] O. A. Igoshin, A. Mogilner, R. D. Welch, D. Kaiser, and G. Oster, „Pattern formation and traveling waves in myxobacteria: theory and modeling,” *Proc Natl Acad Sci U S A*, vol. 98, pp. 14913–14918, 2001.
- [65] K. M. Sandoz, S. M. Mitzimberg, and M. Schuster, „Social cheating in *Pseudomonas aeruginosa* quorum sensing,” *Proc Natl Acad Sci U S A*, vol. 104, no. 40, pp. 15876–15881, 2007.
- [66] T. Malthus, *An Essay on the Principle of Population*. 1798.
- [67] R. Pearl, „The Growth of Populations,” *The Quarterly Review of Biology*, vol. 2, pp. 532–548, 1927.
- [68] J. U. Kreft, G. Booth, and J. W. Wimpenny, „BacSim, a simulator for individual-based modelling of bacterial colony growth,” *Microbiology (Reading, England)*, vol. 144 (Pt 1, pp. 3275–87, Dec. 1998.
- [69] G. K. Winley, „The Logistic Model of Growth,” *AU Journal of Technology*, vol. 11, no. 2, pp. 99–104, 2007.
- [70] J. Baranyi, *Modelling and parameter estimation of bacterial growth with distributed lag time*. PhD thesis, University of Szeged, Hungary, 2010.
- [71] K. Biliouris, D. Babson, C. Schmidt-Dannert, and Y. N. Kaznessis, „Stochastic simulations of a synthetic bacteria-yeast ecosystem,” *BMC systems biology*, vol. 6, p. 58, Jan. 2012.
- [72] F. J. Richards, „A Flexible Growth Function for Empirical Use,” *Journal of Experimental Botany*, vol. 10, no. 2, pp. 290–301, 1959.
- [73] G. Degrassi, G. Devescovi, R. Solis, L. Steindler, and V. Venturi, „*Oryza sativa* rice plants contain molecules which activate different quorum sensing N-acyl homoserine lactone biosensors and are sensitive to the specific AiiA lactonase,” *FEMS Microbiol Lett*, vol. in press, 2007.
- [74] T. Hosni, C. Moretti, G. Devescovi, Z. R. Suarez-Moreno, M. B. Fatmi, C. Guarnaccia, S. Pongor, A. Onofri, R. Buonauro, and V. Venturi, „Sharing of quorum-sensing signals and role of interspecies communities in a bacterial plant disease,” *ISME J*, vol. 5, no. 12, pp. 1857–1870, 2011.

- [75] X. Xiao and G. F. Fussmann, „Armstrong-McGehee mechanism revisited: competitive exclusion and coexistence of nonlinear consumers.,” *Journal of theoretical biology*, vol. 339, pp. 26–35, Dec. 2013.
- [76] R. A. Armstrong and R. McGehee, „The University of Chicago Competitive Exclusion,” vol. 115, no. 2, pp. 151–170, 2013.
- [77] G. F. Gause, „Experimental studies on the struggle for existence: 1. Mixed population of two species of yeast.,” *Journal of Experimental Biology*, vol. 9, pp. 389–402, 1932.
- [78] G. Hardin, „The competitive exclusion principle,” *Science*, vol. 131, no. 3409, pp. 1292–1297, 1960.
- [79] J. R. Chandler, S. Heilmann, J. E. Mittler, and E. P. Greenberg, „Acyl-homoserine lactone-dependent eavesdropping promotes competition in a laboratory co-culture model,” *The ISME journal*, vol. 6, pp. 2219–2228, Dec. 2012.
- [80] A. Cavagna, A. Cimorelli, I. Giardina, G. Parisi, R. Santagati, F. Stefanini, and M. Viale, „Scale-free correlations in starling flocks,” *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 107, no. 26, pp. 11865–11870, 2010.
- [81] T. Vicsek and A. Zafeiris, „Collective motion,” 2010.
- [82] R. Sokal, „Local spatial autocorrelation in biological variables,” *Biological Journal of the Linnean Society*, vol. 65, pp. 41–62, Sept. 1998.
- [83] M. Nagy, Z. Akos, D. Biro, and T. Vicsek, „Hierarchical group dynamics in pigeon flocks,” *Nature*, vol. 464, no. 7290, pp. 890–U99, 2010.
- [84] J. Maynard Smith and G. R. Price, „The Logic of Animal Conflict,” *Nature*, vol. 246, pp. 15–18, Nov. 1973.
- [85] H. K. Patel, Z. R. Suárez-Moreno, G. Degraasi, S. Subramoni, J. F. González, and V. Venturi, „Bacterial LuxR solos have evolved to respond to different molecules including signals from plants,” *Frontiers in plant science*, vol. 4, p. 447, Jan. 2013.